

EPIDERMISSTUDIER

AV

GÖSTA HÄGGQVIST

MED. LIC., BL.



AKADEMISK AVHANDLING,

SOM MED VEDERBÖRLIGT TILLSTÅND FÖR VINNANDE AV MEDICINE DOKTORSGRAD

VID LUNDS UNIVERSITET TILL OFFENTLIG GRANSKNING FRAMLÄGGES

Å HISTOLOGISKA LÄROSALÖN LÖRDAGEN DEN 24 MAJ 1919

KL. 10 F. M.



LUND 1919

HÅKAN OHLSSONS BOKTRYCKERI

EPIDERMISSTUDIER

1. DE LANGERHANS'SKA CELLERNA
2. OM DEN VITALA METYLENBLÅFÄRGNINGEN
AV EPIDERMIS

AV

GÖSTA HÄGGQVIST



MED 2 TAVLOR OCH 2 TEXTFIGURER

(MIT ZUSAMMENFASSUNG IN DEUTSCHER SPRACHE)



LUND
C. W. K. GLEERUP

LEIPZIG
OTTO HARRASSOWITZ

Föredragen i K. Fysiografiska Sällskapet den 9 april 1919.

LUND 1919
HÅKAN OHLSSONS BOKTRYCKERI

Föreliggande undersökningar äro att betrakta såsom en fortsättning på de år 1914 i Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar publicerade (13). Jag redogjorde där för huru jag under arbetet med nervfärgningar i människans epidermis påträffat LANGERHANS'ska celler och sett deras förbindelser med nervtrådar. Ett närmare studium av litteraturen rörande dessa bildningar har emellertid visat huru oklar deras ställning i själva verket är och jag har därför ansett mig tvungen, att, innan jag fortsatte på den sålunda inslagna vägen, skaffa mig klarhet över dessa cellers natur. För att undersöka deras genes började jag en jämförande-anatomisk undersökning över epidermis utveckling och parallellt därmed färgade jag LANGERHANS'ska celler medelst rongalitivitt. Därvid visade sig emellertid snart cellernas »genes» vara en helt annan än jag från början hade föreställt mig. Sambandet med epidermisutvecklingen bortföll och för att icke i detta arbete få tvenne föga sammanhängande delar har jag uppskjutit undersökningen av epidermis utveckling till en senare publikation. Det visade sig vidare önskvärt att för jämförelses skull framställa guldkloridfärgningar av huden, och de medelst dessa båda metoder vunna resultaten framläggas här i kapitel I.

De LANGERHANS'ska cellernas problem har visat sig bero på ifrågavarande färgningsmetoder och jag har därför önskat fördjupa min kunskap beträffande desamma och särskilt gäller detta den vitala metylenblåmetoden, denna egendomliga färgning, som, allt sedan den först upptäcktes av EHRLICH, varit föremål för många forskares, histologers, fysiologers och kemisters, undersökningar. Möjligheten, att åtminstone från en sida tränga detta problem in på livet, syntes mig efter THUNBERGS upptäckt av en »succino-dehydrogenas» i musklerna betydligt förstorad, i det att här en möjlighet att förklara de vid vital metylenblåfärgning uppträdande avfärgningarna, syntes mig given. Tillgodogörande mig de vid sistnämnda forskares arbeten vunna resultaten, har jag i en del av föreliggande undersökning tillämpat och anpassat hans arbetsmetoder vid försök, där jag sökt vinna klarhet över de särskilt ur histologisk synpunkt intressanta spörsmålen. Önskvärt hade varit, att jag kunnat utsträcka dessa undersökningar även till andra till vitalfärgning brukbara ämnen. Härtill har dock möjlighet saknats. Omöjligheten, att under nu rådande mellan- och inomfolkliga förhållanden anskaffa de önskvärda färgämnen, har jag icke kunnat övertvinna. Vidare vore det vid en dylik undersökning vida lämpligare att studera

något annat organ än den svårisolierbara epidermis, som mina här föreliggande, i kapitel II framlagda, studier beträffar. Ett vidare arbete på den inslagna vägen synes mig dock ge hopp om, att den vitala färgningens gåta i en snar framtid skall kunna föras något närmare sin lösning.

Innan jag övergår till skildringen av mina undersökningar är det mig en kär plikt att frambära mitt lika värdsamma som djupt kända tack till professorerna C. M. Fürst, I. Broman och T. Thunberg, på vilkas laboratorier mitt arbete utförts och från vilka jag rönt många bevis på välvilligt intresse. Mina kamrater, amanu-enserna vid härvarande anatomiska institution och ett stort antal studerande därstädes, vilka offervilligt ställt sin hud till mitt förfogande, är jag likaledes ett varmt tack skyldig. Sist men icke minst tackar jag min hustru, som biträtt mig vid mitt arbete och vilkens förtjänstfulla teckningar jag anser vara en prydnad för min avhandling.

KAPITEL I.

De Langerhans'ska cellerna.

I 5:te upplagan av sin år 1867 utkomna »Handbuch der Gewebelehre des Menschen» avhandlar KÖLLIKER (18) å sid. 111 hudinnervationen och han diskuterar där nervtrådarnas inträngande i epidermis. Han gör därvid följande uttalande: »Ein Eindringen in die Epidermis war ich bisher nicht nachzuweisen im Stande, doch fand ich in dieser zwischen den tiefsten Zellen der Schleimschicht in ziemlich regelmässigen Abständen besondere sternförmige Körper ähnlich sternförmigen Zellen, doch ohne nachweisbaren Kern, die vielleicht zu den Nervenenden gehören». Detta är, så vitt jag känner, det tidigaste omnämmandet av de bildningar, som sedermera fått namnet »LANGERHANS' celler». Är detta namn sålunda, vad prioritetsrätten angår, oberättigat, synes det dock i så måtto vara berättigat, som cellerna först efter LANGERHANS' upptäckt blevo den stridsfråga, som de nu i mer än femtio år varit. KÖLLIKERS upptäckt synes nämligen icke hava väckt den uppmärksamhet, som följande år kom LANGERHANS' arbete till del. Möjligen beror detta på, att den förre avhandlar saken endast i förbigående.

Följande år, 1868, publicerade LANGERHANS (20) i Virchows »Archiv für pathologische Anatomie u. Physiologie» ett arbete: »Ueber die Nerven der menschlichen Haut», utfört å Virchows laboratorium. För undersökningen använde han sig av COHNHEIMS metod: $\frac{1}{2}$ % guldchloridlösning — ättiksurt vatten. På detta sätt fick han utom nerverna en del i epidermis, närmare bestämt i de yttigare delarna av Rete Malpighii, liggande celler att framträda. Han ansåg dessa celler vara av annan natur än de, som året förut beskrivits av BIESIADECKI (3). Denne senare beskriver (sid. 226) sina celler såsom följer: »Diese sind meist spindelförmig, sehr schmal, oft mit seitlichen Fortsätzen versehen, ihre Länge entspricht manchmal der Länge zweier Epithelialzellen; sie schliessen einen schmalen, langen Kern ein, oft deren zwei, ihr Protoplasma ist stark hellglänzend und im Verhältnisse zu dem der Epithelialzellen wenig körnig, sie liegen endlich meist mit ihrer Axe senkrecht auf die Oberfläche des Coriums und es steckt oft einer ihrer Fortsätze in dem Gewebe des Coriums selbst. Manchmal sind sie winklig geknickt, indem die Hälfte des Zellenleibes sich

zwischen zwei Epithelien parallel zur Oberfläche des Coriums hineinschiebt. Im Carmin färbt sich ihr Kern in der Regel dunkler als der der Epithelien». BIESIADECKI fixerade sitt material i »Verdünnte Chromsäure-lösung» 10—14 dagar och färgade med karmin. Av hans avbildningar får man, om också intet härom kan med bestämdhet utsägas, snarast det intrycket, att han dels observerat de mellan epidermis basalceller instrålade bindvävstrådarna, dels också tangentiellt, ytligt anskurna celler tillhörande epidermis själv, ett antagande, som motsäges, varken av ovan citerade skildring eller av hans övriga iakttagelser, som, åtminstone efter vårt sätt att se, varit föga skarpa. För att ytterligare belysa detta citerar jag de tre sista punkterna i hans Resumé över hudens normala anatomi:

»Diese Untersuchung weiset also nach oder macht es wahrscheinlich:

1. — — — — —
2. Dass die Schleim-schichte ausser den Epithelialzellen noch andre, mehr den Charakter der Bindegewebszellen an sich tragende Zellen besitzt;
3. Dass diese Zellen, aus dem Gewebe des Coriums stammend, in die Schleim-schichte hineingelangt sind, und
4. dass die jüngsten Zellen des Stratum MALPIGHII aus einer kernhaltigen Protoplasmanasse, die dem Corium angehört, sich entwickeln».

Det synes alltså i hög grad sannolikt, att LANGERHANS har rätt, då han anser dessa celler vara andra än dem han, såsom ovan omtalats, upptäckt. Han färgade sina celler medelst en helt annan metod och beskriver dem (sid. 331) på följande sätt: »Unsere dunklen Körper zeigen eine höchst auffallende Gestalt, welche einem Stern meist so unähnlich ist, dass ich die Bezeichnung der sternförmigen nicht auch auf sie anwenden möchte. Sie besitzen einen rundlichen, oft mehr oder weniger oblongen Leib, in dem die dunkle Goldfärbung nur selten einen Kern deutlich wahrzunehmen gestattet. Von diesem Leibe aus entsenden sie eine wechselnde Zahl zierlicher Ausläufer, von denen einer nach abwärts gerichtet ist, während alle übrigen dem Stratum Corneum zugewandt sind und entweder sofort, oder nachdem sie eine kurze Strecke der Hautoberfläche parallel gelaufen sind, fast senkrecht in die Höhe streben. Sie enden mit einer leichten aber deutlichen knopfförmigen Anschwellung unmittelbar unter der Grenze zwischen Rete und Hornschicht. — — — — —
— — — Länge und Zahl dieser peripheren Ausläufer sind ungemein verschieden. Die letztere schwankt zwischen zwei und zehn, und beträgt in der Regel fünf.»

I den följande skildringen lämnar han dels den uppgiften, att man kan isolera de förgyllda cellerna genom kokning i utspädd kalilut, dels framhåller han, att man ofta får epitelceller och cellgränser mellan epitelcellerna färgade. Dock kan man ofta upptäcka utlöpare, som gå tvärs över epitelcellerna. »Trotzdem», fortsätter han, »könnte dies die Zweifel an der Unabhängigkeit der Ausläufer von der Contouren der Epithelien kaum definitiv beseitigen, wenn nicht in den meisten Fällen, namentlich aber an frischer Haut, die Zellcontouren fast gar nicht oder nur schwach rosa-roth gefärbt wurden, während unsere Körper mit all ihrem Zubehör eine dunkel-violette bis blauschwarze Färbung annehmen.»

LANGERHANS' upptäckt blev omedelbart föremål för en mängd forskares intresse. Redan 1869 publicerade ПОДКОПАЕВ (26) ett mindre arbete utfört i »Institut für experimentelle Pathologie» i Wien. Han arbetade med kaninhud och använde f. ö. även han COHNHEIMS metod för färgningen. Resultatet synes på det hela taget överensstämma med LANGERHANS', om också de kroppar, ПОДКОПАЕВ avbildar, högst väsentligt avvika från den förres vad formen beträffar. Även beträffande utlöparna var den senare författaren av något avvikande uppfattning. Han omtalar huru dessa stiga i höjden och ända mellan rete och kornskiktet. Dock, fortfar han sid. 508, »einige von diesen Fasern verzweigen sich noch und andere zeigen knopfförmige Anschwellung. Ich kann aber nicht behaupten, dass diese die Endigung der Nerven darstellen; denn man sieht mit stärkeren Vergrösserungen grösstentheils noch eine Fortsetzung des Fädchens über die Anschwellung hinaus».

År 1870 följer så en publikation av EBERTH (7), som likaledes anser sig i huvudsak kunna bekräfta vad LANGERHANS sagt om sina celler. I väsentliga punkter avviker dock skildringen. Cellerna beskrivas (sid. 226) såsom »stern- und spindelförmige Gebilde, oft mit einem deutlichen Kern versehen, — — —». »Die Fortsätze dieser Zellen sind leicht varicös, ihre äussersten Enden oft knopfförmig angeschwollen, der centrale Fortsatz dagegen läuft mitunter in eine feine Spitze aus. Sie bieten die gleiche Reaction auf Chlorgold, wie die Cutisnerven, — — —». »Auf Flächenschnitten erscheinen diese Körper als schmale, in kleine Spitzen ausgezogene Spindeln und Sterne, deren seitliche Ausläufer öfter mit denen ihrer Nachbarn anastomosiren. Was die Bedeutung dieser Elemente betrifft, so bin ich ebensowenig wie LANGERHANS hierüber ins Klare gekommen, ja ich kann nicht einmal sagen, »dass ich den Zusammenhang derselben mit Nerven gesehen zu haben glaube». Auch den Gedanken möchte ich abweisen, dass sie amöboide Zellen der Epidermis seien, da sie constant und ihre Lage eine so bestimmte ist».

EIMER (8) (1871) undersökte mullvadens nos medelst guldchlorid- och osmiummetoderna. Han anser nerverna sluta inom själva epitelcellerna med en liten av guldlet färgad ansvällning.

CHRSCHTSCHONOVITSCH (5) (1871) bearbetade vaginalslemhinnan hos kanin medelst HÉNOCCÉ's kloguldmethode och kunde där påvisa LANGERHANS'ska celler i epitelet, och iakttog han huru deras utlöpare bildade ett sammanhängande nät liksom också cellernas samband med subepiteliala nervtrådar.

ELIN (10) (1871) arbetade ävenledes med guldchloridmetoden och undersökte hårda och mjuka gommens mucosa med hänsyn till innervationen. Då hans iakttagelser äro av stort intresse tager jag mig friheten att ur hans arbete (sid. 385) anföra följande citat: »An Schnitten, die von in Chlorgold gefärbten Objekten angefertigt wurden, zeigen sich in sehr vielen Fällen die tiefsten Epithelzellen, die die regelmässig gestellten Papillen umsäumen, intensiv gefärbt, während die darüber befindlichen polyëdrischen Epithelzellen eben noch hellviolett gefärbt erscheinen. Zwischen den polyëdrischen noch den tieferen Schichten angehörigen Epithelzellen fallen einige vereinzelt oder dichter beisammen liegende Zellen auf, deren Protoplasmasubstanz

intensiv dunkelroth gefärbt, der centrale oder peripher gelegene rundliche oder oblonge Kern hell geblieben ist. Diese letzteren sind bald polyëdrisch, bald scheinen sie mit kurzen Spitzen zwischen die benachbarten hellviolett gefärbten Zellen eingekleilt zu sein; sie sind ihres Kernes wegen, sowie auch, weil sie sich der Gestalt nach nur selten von den benachbarten notorischen Epithelzellen unterscheiden, höchst wahrscheinlich auch als solche zu betrachten. Zwischen den mittleren und mehr oberflächlich gelegenen Schichten des Rete mucosum bemerkt man, wenn diese Schichten durch Chlorgold nicht gefärbt wurden, wenn sie hell geblieben sind, ganz dunkel gefärbte Körper, die ein verschiedenartiges Verhalten aufweisen. Erstlich sind sie gleichmässig intensiv gefärbte stabförmige Körper, die mit ihrer Längsaxe senkrecht zur Oberfläche gestellt und an ihren Rändern vielfach ausgezackt sind; dann zeigen sich verästigten Zellen ähnliche Gebilde, die bis auf einen mehr central gelegenen hellen, rundlichen, einem bläschenförmigen Kerne ähnlichen Körper dunkel gefärbt erscheinen; endlich findet man dunkel gefärbte, einen deutlichen Kern einschliessende Gebilde, die mit ihrer Längsaxe ebenso wie die zuerst angeführten, senkrecht zur Oberfläche gestellt sind». Alla dessa bildningar stå i förbindelse med likformigt mörkfärgade, »oder nur wie aus hintereinander stehenden Körnchen zusammengesetzten» slingrande trådar, som tydligt komma från det subepiteliala nervnätet. Han beskriver även huru de i epitelet uppstigande nervtrådarna slingra sig i olika riktningar, vinkelrätt eller parallellt med epitelytan, och huru de avgiva fina trådar åt sidorna. Dessa kunna antingen förbinda sig med de ovan beskrivna nervcellerna, »oder aber», fortsätter han, »um den Rand einer Epitelzelle stark geschlängelt verlaufend sich herumwinden, um sich mit einem benachbarten Nervenfädchen zu vereinigen». ELINS arbete utvisar ingenstädes någon kännedom om LANGERHANS' upptäckt utan synes hans iakttagelser vara tillkomna fullt oberoende av desamma.

EIMER (9) publicerar 1872 ett nytt arbete »Ueber die Nerven-endigung in der Haut der Kuhsitze», och han påvisar här såväl de LANGERHANS'ska cellerna som deras nervförbindelser. Han anmärker om sina färgningar (guldmetoden): »Die dunkle Färbung, die oft unregelmässigen Niederschläge an den massgebenden Stellen trüben den Blick in die natürlichen Verhältnisse». Vissa epitelceller anser han omfattas korgartigt av de LANGERHANS'ska cellerna och deras utlöpare, som ofta sammanfalla med epitelgränserna.

Hade sålunda än så länge frånsett EIMER (1871) alla iakttagelser med endast mindre avikelser gått i samma riktning, så dröjde det dock ej länge innan tecken på tvivel beträffande riktigheten av den först av LANGERHANS framförda uppfattningen började visa sig. Redan i ett arbete av år 1871 (Se MERKEL) synes PALADINO (25) hava påpekat likheten mellan de LANGERHANS'ska cellerna och pigmentcellerna i huden, men han synes icke uttala sig bestämt om deras identitet.

MERKEL (23) anser dock i sitt arbete över »Tastzellen und Tastkörperchen bei den Hausthieren und beim Menschen» (1875) att cellernas verkliga karaktär undgått LANGERHANS. Han påpekar, att om man behandlar bitar från de vita partierna av

ett svart-vitfläckigt svintryne i guldchlorid och de pigmenterade partierna med osmium på vanligt sätt så visa snitt från dessa bitar såväl vad »Lagerung, Aussehen und Menge» beträffar en fullständig överensstämmelse mellan de stjärnformiga cellerna, endast att de ena mörkfärgats av guld och de andra av sitt innehavda pigment. Han avslutar sina betraktelser över detta problem med orden att »Die LANGERHANS'schen Zellen dürfen also nach solchen Ergebnissen ihres bisher zweifelhaften Charakters entkleidet und definitiv in die Reihe der Bindegewebelemente verwiesen werden».

I ett arbete av samma år (1875) avhandlar även v MOJSISOVICS (24) frågan. Han påpekar först huru »der Zwischencellkitt» har förmåga att reducera guldlösningar och huru detta kan föra till misstag. I fortsättningen gör han följande uttalande (sid. 246): »Was den von verschiedenen Histologen behaupteten Zusammenhang varicöser Nervenfädchen mit den in neuerer Zeit so oft genannten sternförmigen Körperchen (LANGERHANS'sche Körperchen) betrifft, so ist ein solcher mit Bestimmtheit überhaupt noch nicht beobachtet worden; das Inconstante ihres Auftretens und die seltenen Fälle, in denen ich dergleichen Gebilde im Schweinerüssel zu sehen bekam, bestimmen mich ihre nervöse Natur in Frage zu stellen».

LEYDIG (21) (1876) undersökte »Die Hautdecke und Schale der Gastropoden», men gör där en del uttalanden även beträffande förhållandena i ryggradsdjurens epidermis. Han anser de pigmenterade och opigmenterade förgrenade cellerna för identiska och skola båda hava kontraktil förmåga. De äro f. ö. fullständigt lika kromatoforer i läderhuden och stå liksom dessa i förbindelse med nervtrådar.

ARNSTEIN (2) avhandlar 1876 dessa celler i sitt arbete »Die Nerven der behaarten Haut». Han framhåller där det tvivel som uppstått rörande deras nervösa natur och framhåller därvidlag, att den möjligheten föreligger, att sambandet med nervtrådarna endast varit en contiguität. I denna riktning anser han det även peka, att man funnit dessa celler i så växlande antal, i det att de ibland ligga så nära varandra, att deras utlöpare beröra varandra och ibland endast enstaka på långa sträckor. »Meine Erfahrungen», fortsätter han (sid. 218) »haben mich zur Überzeugung geführt, dass die fraglichen Gebilde Wanderzellen sind, die aus dem subcutanen Gewebe und dem Corium in das Epithel einwandern». Han anför härför ett experiment vid vilket han avrakat ett öra på en levande kanin och däri sedermera kunnat påvisa flera av dessa celler än i det icke rakade. Han arbetar med hudstycken, »die nicht über ein Quadratcentimeter messen». Dessa avfärgar han om guldet reducerats allt för rikligt med cyankalium och säger därefter (sid. 219): »Das Präparat ist dann so durchsichtig, dass es trocken eingeschossen, für starke Systeme zugänglich ist». Han finner dessa celler särskilt rikligt ikring övergångskärl och kapillarer och även ofta inom desamma.

RIBBERT (29) publicerade 1878 sin gradualavhandling »Beiträge zur Anatomie der Hautdecke bei Säugethieren». Arbetet hade utförts hos LEYDIG. Han iakttagar, som nedan anförda citat utvisar, de LANGERHANS'ska cellerna och är så övertygad om icke blott deras existens utan ock deras karaktär av nervceller att han i en

polemik mot v. MOJSISOVICS, vilken, som ovan visats, funnit nervtrådarna i svintrynet ända fritt mellan epidermiscellerna (sid. 27) säger: »Und so war ich auch fast überzeugt, dass v. Mojsisovics entweder die Zellkörper, zu denen die varicösen Fasern gehören mussten, übersehen, oder dass auch hier das Chlorgold seine Schuldigkeit nicht gethan hatte.» (Kursiverat av förf.) RIBBERT är f. ö. den förste som påvisar att de här diskuterade cellerna kunna innehålla pigment och han slutar sitt arbete med att såsom särskilt viktiga framhålla tvenne punkter:

- »1) Alle in die Epidermis eintretenden Nerven enden in LANGERHANS'schen Zellen.
- 2) Die LANGERHANS'schen Körperchen finden sich bald mit, bald ohne Pigment».

CYBULSKY (6) (1883) bearbetade nosen och överläppen hos oxen. De metoder, han använde, voro dels guldkloridfärgningar efter föregående behandling med myrsyra eller ättiksyra, dels osmium och kromsyrefärgningar och dels färgningar medelst en modifierad HENOCQE's metod ($\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{16}$ % guldkloridlösning. $\frac{1}{4}$ — $\frac{3}{4}$ t., därefter 50—100 % vinsyra under uppvärmning på vattenbad). Denna sista metod synes honom hava givit de bästa resultaten, och det är på grund av de medelst densamma vunna resultaten han yttrar sig om epitelinnervationen. Han framhåller huru dessa kunna modifieras genom längre eller kortare behandling i de olika lösningarna. Han iakttog på detta sätt en del intressanta celler. Dels är det mycket oregelbundet gestaltade celler med utlöpare och en—många kärnor. Dessa celler kunna färgas även när nerverna ej färgats i epitelet och det råder, vad lokaliseringen av desamma beträffar, en tydlig antagonism mellan dessa celler och nerverna i epitelet d. v. s. de förra synas uppträda rikligt; där de senare äro fåtaliga och tvärtom. Dels upptäckte han, liggande i fortsättningen av bindvävspapillerna, en del egendomliga, av guld färgade celler, som sträckte sig ända upp mot hornskiktet, och vilkas form beständes genom deras »Aneinanderlagerung». »Liegen die Zellen weit von einander, so sind sie rund oder oval; lagern sie sich dicht auf einander, so werden sie abgeplattet, besonders stark knapp unter der Hornschicht». Dessa celler anges skilja sig från epitelcellerna i en del avseenden, och de stå i förbindelse med nervtrådar, som kommande från bindvävspapillen antingen sluta i en dylik cell eller gå förbi cellerna under avgivande av grenar till desamma. Inga av dessa celler anser författaren vara identiska med de av LANGERHANS funna.

RANVIER (27) (anförd enl. tyska upplagan, översatt av NICATI och WYSS, Leipzig 1888) har även iakttagit de LANGERHANS'ska cellerna. Han anger deras läge för varierande, men att de uppträda rikligare i epidermis »mellersta och övre regioner». De färgas ofta intensivare än nerverna, hava talrika perifera och en tjockare central utlöpare. Cellerna förklaras vara intet annat än »Wanderzellen», och deras egenskap att uppträda rikligare i närheten av nerverna anses bero på att de för sitt framträngande använda kanaler, som huvudsakligen äro avsedda att härbergiera nervtrådarna. Cellernas förgrening beror på kanalernas förgrening. Anmärkas bör, att EBERTHS ovan citerade arbete (7) här (sid. 831 not 2) anföres på ett så vitt jag kunnat finna, alldeles falskt sätt. Han säges nämligen hava varit den förste, som bestritt den nervösa karaktären av de LANGERHANS'ska cellerna och i stället upp-

ställt frågan om det icke vore förgrenade pigmentceller eller »Wanderzellen». Dessa åsikter skulle var för sig hava upptagits av MERKEL resp. ARNSTEIN. Jag hänvisar rörande denna sak till vad som ovan (sid. 7) anförts ur EBERTHS arbete.

KÖLLIKER (19) (1889) framhåller såsom sin åsikt, att de ifrågavarande bildningarna skulle vara från underliggande cutis invandrade element och sålunda vara jämställda med de under vissa förhållanden invandrande pigmenterade bindvävscellerna, men däremot icke lymfoida celler.

MAYER (22) (1892) har använt metylenblått och färgat såväl nerver som LANGERHANS'ska celler. Han anser, att ett samband mellan dessa båda bildningar icke förekommer annat än såsom skenbild beroende på att nervtrådarna och utlöparne från stjärncellerna korsar varandra. Emellertid fortsätter han (s. 35) som följer: »Aus einzelnen Beobachtungen aber (insbesondere an der Hornhaut der Katze) glaube ich in der Tat eine Verbindung unzweifelhafter feinsten Nervenfibrillen mit einer vielstrahligen schlanken Zelle ableiten zu dürfen. Es wird sich hier jedoch nicht sowohl um die Endigung einer Nervenfibrille in einer LANGERHANS'schen Zelle, als vielmehr nur um die Einschaltung eines zelligen Elementes in den intraepithelialen Nervenplexus gehandelt haben, wie dergleichen Einschaltungen in die extraepithelialen Nervengeflechte der Cornea häufig vorkommen, so dass de facto gar keine sog. LANGERHANS'sche Zelle, sondern etwas ganz anderes vorlag, dass allerdings in äusseren Habitus an letztere stark erinnerte». De stjärnformiga cellerna anser han hava uppkommit på ort och ställe ur vanliga epitelceller genom förändringar i cellsubstans och kärnor. Dessa omvandlingsprocesser anser han sig hava kunnat följa på präparat behandlade med ättiksyreångor (jfr HERXHEIMER).

VOLLMER (33) (1895) undersökte nervförhållandena i spetsiga condylom och använde därvid, liksom före honom REISSNER för samma ändamål, »GOLGIS snabba metod» resp. av CAJALS modifikation av densamma. Han påvisar härstädes i olika fall mer eller mindre talrika LANGERHANS'ska celler, vilkas utlöpare bilda ett maskverk mellan epitelcellerna. Beträffande detta polemiserar han mycket skarpt mot REISSNER (28), som i sitt arbete icke omnämnt några LANGERHANS'ska celler, utan i stället omtalar, att de i epitelet inträdande nerverna bilda ett dylikt nätverk, vilket VOLLMER å sin sida icke kunnat fastslå. Dock framhåller denne, att det i epitelet utom de LANGERHANS'ska cellerna finnes fina varicösa, nervösa ändförgreningar i de spetsiga condylomen. Dessa sistnämnda celler anser han vara av nervös natur och han anger sig även i några fall hava iakttagit övergångar av nervtrådar i sådana celler. Till slut vill jag ur VOLLMERS arbete ytterligare framhålla, att han med instämmande framhåller LENHOSSEKS med flera forskares (se VOLLMER l. c.) iakttagelser, att den GOLGI'ska metoden även färgar en mängd andra saker; blodkapillarer, brosk-, bindvävs-, muskel- och embryonala epidermisceller m. m.

HERXHEIMER (12) (1896) undersökte Pemphigus vegetans och spetsiga condylom. Han intager med hänsyn till sina uppgifter om också icke till sin uppfattning en särställning, och jag tvingas därför att göra rätt långa och talrika citat ur hans arbete. Han har färgat de LANGERHANS'ska cellerna med CAJALS metod, men har

även arbetat med andra metoder. Han gör om desamma följande uttalanden: »Die genugsam bekannten, mit einem grossen Kern und eigentümlich gestalteten Protoplasma versehenen LANGERHANS'schen Zellen kann man mit den meisten gangbaren basischen und einigen sauren Anilinfarben darstellen. Sie behalten dann aber immer ihren eigentümlich gelbbraunen Farbenton bei. Bei einiger Uebung kann man sie leicht erkennen und von den Epithelien unterscheiden.» Sedan han betonat, att desamma uppträda särskilt talrikt vid diverse hudsjukdomar fortsätter han: »Auch habe ich versucht, sie unter normalen Verhältnissen darzustellen, wozu ich die Cornea von Mäusen und von Meerschweinchen verwendete». »Es gelang mir aber dabei niemals trotz einer grösseren Versuchsreihe, die bizarren, auch von SIGMUND MAYER so charakteristisch geschilderten LANGERHANS'schen Zellen zu sehen, sondern diejenigen Zellen, welche durch die Wirkung des Essigsäuredampfes sichtbar wurden, waren offenbar Epithelzellen, die ihre Form etwas verändert hatten, doch nie derartig, dass sie den obigen Zellen analog erschienen wären.» På tal om cellernas nervförbindelser säger han, sedan han framhållit dels att han lyckats färga dem i såväl Rete MALPIGHII som mer sällan i det subepidermala papillskiktet, och dels att han ofta fått varicösa nervtrådar färgade i papillerna: *»gelang es mir niemals, eine Verbindung der beiden Gebilde nachzuweisen»*. Längre fram heter det: »Aus dem Erläuterten erhellt, dass die auf der Basis der CAJAL'schen Methode ausgeführten Untersuchungen nicht überzeugend darthun konnten, dass die in Rede stehenden Zellen als nervöse Endorgane zu betrachten sind». Han framhåller därefter huru dessa arbeten hava lärt, att de även förekomma i bindväven, och att, om man undersöker många snitt, finner man huru ifrågavarande bildningar »öfters am Epithelrand, die Fortsätze bereits in das Epithel hineinstreckend und endlich häufig in den untersten Schichten des letzten sich befinden». Han anser det därför tydligt, att ifrågavarande celler äro bildningar, som invandra i epitelet från bindväven. Vidare uppger han, att, om man färgar snitt från pemphigus eller spetsiga condylom enligt NISSL, så kan man lätt påvisa en överensstämmande protoplasma-byggnad hos dessa celler och de fixa bindvävscellerna. Några rader längre fram: »Während nun bei den in den Papillen liegenden fixen Bindegewebezellen die Maschen des Netzwerkes von dem ungefärbten Theile des Zelleibs ausgefüllt werden, liegen manchmal vereinzelt, manchmal zu Gruppen gelagerte braune Körnchen in den Maschen des Netzes der Langerhans'schen Zellen». Han fastslår vidare, att dessa korn utgöras av pigment. Därefter ingår han på frågan om dessa cellers förhållande till chromatophorerna och säger därom, att, då de alltid för honom visat sig vara pigmenterade, tvekar han icke att förklara, *»dass ich die erwähnten Zellarten, wenigstens soweit sie in der menschlichen Haut vorkommen, für identisch halte»*.

År 1897 framkastar KROMAYER (17) en ny teori angående dessa celler. Han anser sig kunna visa, att epidermis består av tvenne olika cellslag: dels nätceller, som sinsemellan skulle sammanhänga medelst utlöpare och dels huvudceller, som skulle ligga inlagrade mellan dessa utlöpare. De båda cellslagen skulle vara olika utdifferenterade hos olika ryggradsdjur och dåligt hos homo. De LANGERHANS'ska cellerna

anser han vara »reduktionsfigurer» uppkomna genom metallsalternas reduktion och utfällning. Fällningarna ligga vid olika metoder på olika ställen inom epitelet och få sin form på grund av en viss anslutning till epiteltrådarna. Jag anför här slutet av hans avhandling över dessa bildningar, vars cellulära natur han förnekar (sid. 354): »Wenn nun die Netzzellen mit ihrer besonders kräftigen nach den verschiedenen Seiten ausstralenden Faserung stets den Grundstock der Reductionsfiguren abgeben, so haben wir zwei zusammen vorkommende Erscheinungen, kräftige Protoplasma-faserung und vorzugsweise Goldreduction, die wir causal verbinden können. Dieser causale Zusammenhang wird noch sicherer dadurch, dass ja überhaupt die Reduction dem Faserverlauf folgt, also doch in einer gewissen Abhängigkeit von der Faserung stehen muss. Es ist daher auch anzunehmen, dass die besonders kräftige Faserung der Sternzellen einen vorzugsweisen Einfluss auf die Reduction ausübt.

Demnach haben wir in den LANGERHANS'schen Reductionsfiguren eine Auslese der entwickelsten Protoplasmafaserung, die sich an eine epitheliale Netzzelle anschliesst. Unwillkürlich erinnern wir uns hierbei der Verhältnisse der Froschepidermis: dort konnten wir das gesammte ebenfalls sich an die Netzzellen anschliessende fasertragende Protoplasma der Epidermis durch Färbung darstellen, weil eine weitgehende 'Differenzierung' des Protoplasma vorhanden ist; in der menschlichen Epidermis, die diese Differenzierung nicht aufweist, war das nicht möglich. Aber die LANGERHANS'schen Reductionsfiguren sind in histologischer Beziehung und in ihrem Verhältnis zu den Epithelien ein Analogon des reticulären fasertragenden Gewebes der Froschepidermis.

Schon vorher habe ich auf die regelmässige Verteilung der LANGERHANS'schen Reductionsfiguren in der Epidermis aufmerksam gemacht, die die Epidermis in Territorien eintheilt, in denen immer nur eine LANGERHANS'sche Reductionsfigur vorkommt, in denen sich also immer nur einmal die besprochene histologische Anordnung der Protoplasmafasern und Netzzellen vorfindet die zur Reductionsfigur führt. Demnach wäre also das ganze, scheinbar ungegliederte Epidermisgebiet, in einzelne Abtheilungen zerlegt, die sich durch Wiederholung derselben histologischen Struktur (die eben ursächlich den LANGERHANS'schen Reductionsfiguren zu Grunde liegt), als solche kundgeben und erkennen lassen. Dieser Gedanken weiter auszuführen, werden uns später Chromatophoren der Froschepidermis Veranlassung geben.

Nur noch einen die »LANGERHANS'schen Zellen» betreffenden Punkt zu erörtern, sei mir gestattet. Bekanntlich sind sie vielfach als Nervenendorgane aufgefasst worden (RIBBERT, LEYDIG), als welche sie in direkter Verbindung mit Nervenfasern gesehen worden sind. Mit meiner Auffassung der LANGERHANS'schen Reductionsfiguren würde die eines Nervenendorganes nicht in Widerspruch stehen und ich würde ihr aus theoretischen Gründen gern zuneigen. Indessen habe ich nie eine Nervenfaser in den Reductionsfiguren enden sehen, so dass ich den wenigen darüber vorliegenden Beobachtungen sceptisch gegenüber stehen muss. Als direkter diagnostischer Irrthum muss ich hingegen die Beobachtung betrachten, dass LANGERHANS'sche »Zellen» im Bindegewebe vorkommen sollen, ein Irrthum, der wohl durch die Dicke

der benutzten Schnitte hervorgerufen ist und den in seinen Einzelheiten klar zu legen, ich bei Besprechung der Chromatophoren noch einmal genötigt sein werde.»

STÖHR (30) säger i sin lärobok (sid. 205) om dessa celler: »Dieselben wurden früher für aus dem Corium eingedrungene Wanderzellen gehalten und es ist möglich, dass einzelne derselben wirklich einen derartigen Ursprung haben; die Mehrzahl aber sind Umbildungen untergehender gewöhnlicher Epithelzellen, denn man findet alle Übergangsformen von typischen Epithelzellen zu jenen Sternformen.»

År 1914 lyckades jag (13) färga de LANGERHANS'ska cellerna medelst den KREIBISCH'ska rongalitivittmetoden, såg deras förbindelse med nervtrådar och anslöt mig därför till den gamla uppfattningen om dem såsom perifera ganglieceller.

KREIBISCH (16) (1917) yttrar följande om desamma, sedan han i korthet redogjort för ett antal föregående forskares meningar (sid. 489): »Bei obiger protrahierter Färbung kommen Nervenzellen und LANGERHANS'sche Zellen gleichzeitig zur Darstellung. Wenn nun auch bei letzterer die Färbung etwas später eintritt, so besitzen zweifellos beide Zellen die gemeinsame Eigenschaft, sich vital zu färben, bevor die umgebenden Epithelzellen Farbstoff angenommen haben. Der Kern beider ist manchmal etwas metachromatisch gefärbt, Farbschollen treten in beiden auf, und bei Überfärbung kann in beiden der Kern damit vollkommen überdeckt sein.» — — — — — »Die Unterscheidung gelingt schliesslich dadurch, dass die Fortsätze der LANGERHANS'schen Zellen eben doch nicht den Bau der Nervenfasern haben, dass man die Zelle nirgend in einen Achsenzylinder sich fortsetzen sieht. Viel wichtiger erscheint mir endlich die Tatsache, dass bei obiger Färbung in den Fortsätzen der LANGERHANS'schen Zellen öfter ein grünlicher Farbenton auftritt, der auf die Färbung von geringer Pigmentmengen zurückzuführen ist, — — — — —. Tatsächlich ergeben sich dann weiter alle Übergänge von derartig schwach pigmentierten Zellen zu solchen, welche mehr Pigment erhalten.» — — — — — »Nach diesem Befunde sehe ich in den LANGERHANS'schen Zellen Pigmentzellen, die auf einer verschiedenen Stufe der Pigmentation stehend, eine physikalisch chemische Beschaffenheit besitzen, der zufolge auf ihnen der Farbstoff bei der vitalen Färbung haftet.»

Kritisk granskning av de hittills i litteraturen föreliggande resultaten.

Av förestående litteraturöversikt och de i denna lämnade citaten framgår, huru vitt isär åsikterna om de LANGERHANS'ska cellerna gå. Under det att deras första upptäckare ansåg dem vara perifera ganglieceller, till vilken åsikt sedermera ett stort antal forskare: PODCOPAËW, EBERTH, EIMER, CHRSCHTSCHONOWITSCH, ELIN, LEYDIG, RIBBERT, VOLLMER och slutligen HÄGQVIST anslöto sig, har ett ävenledes icke ringa antal forskare framhållit sin avvikande mening i föreliggande fråga. Dessa sistnämnda forskare äro dock sins emellan av mycket divergerande meningar, i det att MERKEL anser dem vara pigmentlösa pigmentceller tillhörande bindvävsgruppen;

ARNSTEIN att de äro amöboida celler tillhörande de vita blodkropparnas klass, till vilken åsikt sedermera RANVIER ansluter sig; KÖLLIKER anser dem vara amöboida bindvävsceller; HERXHEIMER håller dem för vanliga pigmenterade pigmentceller; KROMAYER för »reduktionsfigurer»; MAYER och STÖHR för omvandlade epidermisceller; och slutligen anser KREIBISCH dem vara pigmentceller på olika utvecklingsstadier.

Ett dylikt virrvarr av åsikter gör det nödvändigt att vi för oss uppställa frågan: *Vad veta vi egentligen om de Langerhans'ska cellerna? Vad får anses såsom fastslaget och vad såsom blott och bart osäkra teorier?* En dylik utredning anser jag nödvändig, för att man med utgångspunkt från det säkert fastställda, för sig skall kunna till besvarande uppställa konkreta frågor, vilka äro ägnade att belysa föreliggande spörsmål.

Alltså:

Vad veta vi säkert om de Langerhans'ska cellerna?

Vi veta, att man under vissa förhållanden kan i epidermis framställa cellulära bildningar försedda med 1) en oregelbundet formad kropp, 2) ett antal från denna kropp mellan de övriga epidermiscellerna utgående utlöpare, 3) att dessa utlöpare i vissa fall sins emellan kunna bilda ett de övriga epidermiscellerna omspinnande nätverk (EBERTH, CHRISCHONOWITSCH, VOLLMER och HÄGGQVIST), 4) att vissa forskare icke trots användande av samma arbetsmetod lyckats framställa detta nätverk utan endast vissa utlöpare från cellerna (LANGERHANS m. fl.), 5) att de LANGERHANS'ska cellerna antingen kunna vara pigmenterade (LEYDIG, RIBBERT, HERXHEIMER) eller opigmenterade (LEYDIG, RIBBERT, MERKEL m. fl.), 6) att ifrågavarande celler emellanåt kunna ses stå i samband med perifera förgreningar av spiralnerver, men att detta förhållande icke är så allmänt iakttaget som man av perifera ganglieceller kunde vänta.

Vad som härutöver påståtts om de LANGERHANS'ska cellerna är icke annat än hypoteser, för vilka de lämnade bevisen aldrig varit så tillfyllestgörande, att någon viss av dem kunnat göra sig gällande på de övrigas bekostnad. Då den direkta vägen till frågans lösande icke synes stå öppen, utan de, som försökt begagna densamma, råkat in på olika vägar och kommit till olika resultat, måste man söka, att på annat sätt nå det eftersträfvade målet. Tydligt är, att, då ett så stort antal forskare kommit till så vitt skilda resultat, felkällorna måste vara mycket stora. De felkällor, som här kunna komma i fråga, ligga såsom vid allt histologiskt arbete a) i de tekniska metodernas bristfälligheter, b) i möjligheten att tolka de erhållna resultaten på ett flertal eller rent ut på godtyckligt sätt. Vi få därför också utan vidare vår frågeställning klar. Vi vilja veta för det första: *vilka metoder, som använts för framställning av dessa omdebatterade celler*; för det andra: *efter vilka principer denna färgning sker*; för det tredje: *huru förhålla sig de Langerhans'ska cellerna vid dessa färgningar*; för det fjärde: *huru förhåller sig epidermis övriga beståndsdelar vid*

desamma, och för det femte: kunna vi ur vad, som sålunda framkommit, förklara någon eller några av de teorier, som uppställts rörande de Langerhans'ska cellerna. Slutligen: kunna vi få några hållpunkter för dessa cellers ställning.

Sedan jag sålunda klarlagt den väg, jag i följande utredning ämnar följa, övergår jag till besvarandet av den första frågan:

Vilka metoder hava använts för att göra de Langerhans'ska cellerna synliga?

Frågan kan endast besvaras genom ett studium av den föreliggande litteraturen och jag sammanfattar därför tabellariskt vad som där sagts om färgningsmetoderna.

Förf.	Färgningsmetod
LANGERHANS	Guldklorid samt isolering i utspädd kalilut
PODCOPAËW	» enl. COHNHEIM
EBERTH	» enl. COHNHEIM
CHRSCHTSCHONOWITSCH	» enl. HÉNOCQES
ELIN	» enl. ?
EIMER	» enl. ?
MERKEL	» enl. ?
V. MOJSISOVICS	» enl. HÉNOCQE m. fl.
RIBBERT	» enl. ?
CYBULSKY	» enl. modifierad HÉNOCQE samt isolering medelst $\frac{1}{2}$ 0/0 cyankalium
RANVIER	» enl. ?
KÖLLIKER	» enl. ?
MAYER	Metylenblått och ättiksyreångor
REISSNER	GOLGIS snabba metod o. CAJALS modifikation
VOLLMER	» » » » »
HERXHEIMER	CAJALS metod m. fl. Alla basiska och några sura anilinfärger
KROMAYER	Guldklorid o. GOLGIS metod
HÄGGQVIST	Rongalitvitt
KREIBISCH	»

Det är alltså icke så få metoder, som kommit till användning, nämligen: guldkloridimprägnering enligt ett antal olika modifikationer, metylenblåmetoden och dess modifikation rongalitvittfärgning, GOLGIS metod samt CAJALS modifikation av densamma och slutligen enligt HERXHEIMER alla basiska och några sura anilinfärger. Dessutom hava några författare företagit isoleringsförsök, och slutligen har MAYER behandlat preparat med ättiksyreångor.

För att intränga djupare i problemet måste vi då fråga oss: hava dessa metoder något gemensamt? Här stöta oss först isoleringsförsöken, MAYERS arbete med ättiksyreångor och slutligen HERXHEIMERS uppgifter angående färgningen såsom från de övriga författarnes arbetsmetoder avvikande, och jag måste därför underkasta dessa uppgifter en närmare granskning.

Jag börjar med isoleringsförsöken. Desamma hava företagits dels med utspädd kalilut (koncentration obekant) samt med en $\frac{1}{2}$ % cyankaliumlösning. Före isoleringen hava präparaten dessutom genomgått en del olika procedurer, i det att såväl LANGERHANS som CYBULSKY isolerade redan guldbehandlade celler. Det är klart, att cellerna härunder måste hava genomgått en hel del förändringar, i synnerhet som ingen hänsyn tagits till de olika vätskornas osmotiska förhållanden. Här har således troligen försiggått såväl skrumpnings- som svällningsprocesser, och vi kunna icke utesluta, att cellerna omvandlats till oigenkännlighet. Av intresse kan det vara att påpeka det CYBULSKY framhåller, att hans stjärnceller — jag lämnar därhän, om dessa äro identiska med de LANGERHANS'ska eller ej — förlora sina perifera utlöpare vid isoleringen trots det att denna synes försiggå utan tillhjälp av nålar och andra grova isoleringshjälpmedel. Detta synes mig tyda på ett tämligen löst samband mellan utlöpare och cellkropp. Jag återkommer senare till detta spörsmål. I vilket fall som helst synes mig de på detta sätt vunna resultaten allt för osäkra för att man vid bedömande av frågan skulle kunna fästa någon betydelse vid dem i synnerhet som — så vitt jag har mig bekant — ingen lyckats att, ur förut obehandlad homo-epidermis med de brukligare, skonsamma metoderna, isolera celler med dylika långa utlöpare.

Med MAYERS försök synes det icke stå bättre till. Han behandlade sitt material med ättiksyreångor och anser sig hava lyckats göra övergångsformer mellan epitelceller och stjärnceller synliga. Detta lyckades även HERXHEIMER, som dock framhåller, att dessa övergångsformer uppstå direkt under ättiksyreångornas inverkan genom epitelcellernas skrumpning. De äro alltså rena konstprodukter.

Återstår så HERXHEIMERS egna uppgifter. Han arbetade utom med CAJALS metod även med anilinfärger, och han uppger, att man medelst alla basiska och några sura anilinfärger kan göra de LANGERHANS'ska cellerna synliga, och att dessa därvid bibehålla sin egendomliga gulbruna färgton. Dessa uppgifter synas ägnade att förvåna var och en som arbetat med de LANGERHANS'ska cellerna. Jag har sökt efter dessa celler i preparat, som färgats med olika hämotoxylin- och karminmetoder samt en mängd olika såväl basiska och sura anilinfärger, vilka det här torde vara överflödigt att uppräknas och trots det dessa preparat under årens lopp säkerligen nått upp till tusental, har jag aldrig på detta sätt lyckats finna celler av stjärnform, som färgats på ett från de övriga epitelcellerna olikartat sätt eller överhuvudtaget blivit synliga. Jag undantager härifrån den vitala metylenblåmetoden och dess modifikation rongalitvitt, till vilka färger jag nedan återkommer. Frånsett detta undantag anser jag mig därför berättigad att uppställa den satsen: de LANGERHANS'ska cellerna kunna icke genom färgning enligt principen syra—bas skiljas

från de övriga epidermiscellerna. Hur skall från en dylik ståndpunkt HERXHEIMERS uppgifter kunna förklaras? Dessa uppgifter böra ses i belysning av några andra av samma författare lämnade uppgifter. Han uppger nämligen längre fram i sin diskussion av dessa bildningar, att desamma för honom alltid visat sig vara pigmenterade, och vidare anger han, att han aldrig under normala förhållanden lyckats få se de LANGERHANS'ska cellerna. Hans uppgifter kunna endast förklaras på ett sätt: HERXHEIMER har icke arbetat med LANGERHANS' celler utan med pigmentceller. Redan LANGERHANS själv framhöll, att de av honom beskrivna, förgrenade cellerna icke innehöllo pigment. Sedermera hade en del forskare beskrivit pigment i desamma, men vi få icke glömma, att det är fråga om förgrenade cellulära bildningar, ibland pigmentlösa och ibland pigmenthaltiga, som kunna påvisas i huden hos människan under fysiologiska förhållanden. Redan KÖLLIKER, som dock på detta område hade stor erfarenhet, framhåller i sin »Gewebelehre», att han icke sett kromatoferer av den i bindväven vanliga typen i epidermis hos människan under normala förhållanden, och till samma resultat kommer BREUL i sitt arbete: »Über die Verteilung des Hautpigmentes bei verschiedenen Menschenrassen», där han säger (s. 693): »Verästelte Pigmentzellen, die in der Epidermis von Thieren so häufig beschrieben sind, sind mir in der menschlichen Epidermis niemals begegnet, weder bei weissen, noch bei angehörigen gefärbter Menschenstämme».

Å andra sidan har VOLLMER i sitt ovan citerade arbete framhållit, att i epidermis hos de spetsiga condylomen pigmentceller av bindvävstyp förekomma bredvid de LANGERHANS'ska cellerna. I de CAJAL-färgade bildningarna är det omöjligt att avgöra, om det finnes pigment eller icke, men däremot är en viss likhet i form mellan dessa bildningar och kromatofererna möjlig att iakttaga. Det är därför ej underligt, om HERXHEIMER trodde även dessa förra vara pigmenthaltiga och helt enkelt identifierade dem med kromatoferer. Dessa senare kunde han under vissa patologiska förhållanden hitta i epidermis men däremot aldrig under normalt tillstånd. Kromatoferer kan man se redan på ofärgat preparat och icke sämre på hämotoxylin- (VOLLMER) eller medelst anilinfärger behandlade preparat. På detta sätt förklaras HERXHEIMERS annars obegripliga uppgifter.

Har det sålunda visat sig, att de här förut till granskning upptagna arbetsmetoderna icke kunnat hålla streck inför ett mera kritiskt studium, utan ått författarna dels rört sig med arbetssätt, som varit ägnade att underlätta uppkomsten av artefacter, dels sammanblandat och som LANGERHANS'ska celler beskrivit bildningar av helt annan natur, så återstår oss intet annat än att skärskåda de på annat sätt, d. v. s. medelst olika nervfärgningsmetoder, vunna resultaten. Här möta oss trenne olika arbetsmetoder: guldchloridfärgningen, metylenblå- resp. rongalitvittfärgningen och slutligen GOLGI- resp. CAJAL-färgningen. Principen för den förstnämnda känna vi, för de sistnämnda däremot icke. Vi upptaga först de medelst GOLGIS och CAJALS metoder vunna resultaten till granskning.

Här är det endast tvänne författare, som komma ifråga, nämligen VOLLMER och HERXHEIMER. REISNER, som även använde denna metod nämner enligt VOLLMER

trots det, att dessa båda använde samma material, intet om de LANGERHANS'ska cellerna, vilka den senare tillskriver sig äran att hava upptäckt i de spetsiga condylomata. Granska vi således de resultat, som de båda förstnämnda författarna framlägga och hålla vi oss därvid till de av dem lämnade avbildningarna slår oss genast ett par saker: HERXHEIMER avbildar endast ett preparat med CAJAL-färgade LANGERHANS'ska celler. Epitelet i denna avbildning är så ytterligt schematiskt tecknat, att detsamma icke kan giva någon som helst vägledning. Vi kunna därför icke yttra oss om storleksförhållandena cellerna emellan. Emellertid likna de av HERXHEIMER tecknade medels CAJALS metod färgade bildningarna så litet de LANGERHANS'ska celler vi äro vana att se såväl å preparat som å andra författares bilder, att jag icke anser det för mycket sagt om jag betecknar dem som i hög grad tvivelaktiga i detta avseende. Ännu mer berättigat synes detta tvivel vara om man studerar de av VOLLMER lämnade avbildningarna. Han har även avbildat epitelcellerna visserligen schematiskt men dock så, att man har anledning tro, det han sökt bibehålla deras ungefärliga storleksförhållanden. Man häpnar därför, när man ser hans »LANGERHANS'ska celler». Dessa svartfärgade förgrenade bildningar äro 6—8 gånger större än de närliggande epitelcellerna. Jämför man med dessa jätteceller de bilder av LANGERHANS'ska celler som lämnats av t. e. KÖLLIKER, RIBBERT, HÄGGQVIST eller först och sist LANGERHANS själv finner man bildningar, som oavsett utlöparna äro likstora eller på sin höjd dubbelt så stora som de övriga epidermis-cellerna. Visserligen vet man från KRONTAHL'S undersökningar, att de enligt GOLGI imprägnade cellerna bli större än icke imprägnade, men denna skillnad är ej större, än att KALLIUS (15) anser den bero på cellernas skrumpning. Detta kan således icke förklara den här diskuterade egendomligheten hos VOLLMERS celler. Denna synes endast kunna förklaras så, att dessa bildningar helt enkelt icke äro identiska med dem, som LANGERHANS givit sitt namn, om de också till sin genes icke torde vara alldeles obesläktade med dessa bildningar. Jag återkommer senare till denna fråga och vill här endast framhålla, att jag anser dem helt enkelt vara sådana artefakter, som VOLLMER själv omtalar i sin polemik mot REISSNER, och rörande vilka han bl. a. anför ett citat från LENHOSSEK. Här synes helt enkelt grupper av epitelceller helt eller delvis hava blivit platsen för färgfällningarna. Utlöparna kunna bero på att intercellularsubstans färgats eller helt enkelt på metodens benägenhet att giva dendritartade bilder (FRIEDLÄNDER enl. KALLIUS). Angående dylika fällningar hänvisar jag f. ö. till KALLIUS (15). Falla dessa metoder bort, återstår oss av de i litteraturen använda metoderna endast guldkloridfärgningen med dess modifikation rongalitivttfärgning. Granska vi de enligt dessa båda metoder färgade stjärnformiga bildningarna, så finna vi, att de såväl till storlek och form som inbördes förhållande äro identiska. Svaret på den uppställda frågan blir alltså: »De LANGERHANS'ska cellerna kunna färgas endast medelst guldkloridimprägnation och vital metylenblåfärgning, så vitt vi hittills av litteraturen få döma. Anmärkas bör dock, att RIBBERT (sid. 21) uppger, att LEYDIG gjort dessa celler synliga med tillhjälp av kromsyra, och slutligen att man även medelst BIELSCHOWSKYS metod event. i AGDUHRS (1)

modifikation kan göra det. Då dessa båda metoder icke spelat någon roll i den strid, som sedan årtionden pågått i här diskuterade fråga, ämnar jag icke uppehålla mig vid densamma. Skälet härför är så mycket större som de principer, vilka ligga till grund för guldkloridmetoden, även i stort sett gälla silverinprägnationen. Jag övergår därför till den andra frågan:

Vilka äro principerna för de ovan nämnda färgningsmetoderna?

Denna fråga är tämligen lätt besvarad. Guldkloridfärgningen är sedan länge väl känd, och jag hänvisar den, som önskar intränga närmare i frågan, till SZYMONOWICZ' (31) uppsats. Här skall endast framhållas, att metoden baserar sig på en imprägnation av nervvävnaden med gultsaltet, som sedan reduceras av vävnaden med tillhjälp av solljus eller kemiska reagens. Det är alltså vad vi med UNNA (32) kunna kalla en reduktionsfärgning. Även metylenblått upptages, såsom jag i ett tidigare arbete sökt visa, under reduktion av nervtrådar, och blåfärgningen är en senare process, där luftens syre spelar en bestämd roll (Se f. ö. Kap. II).

Den fråga vi härnäst uppställt till besvarande löd:

Huru förhålla sig de Langerhans'ska cellerna vid guldklorid resp. metylenblåfärgningarna?

och jag övergår nu till densamma.

Rörande de omdebatterade cellernas utseende vid guldkloridfärgningar finnas i litteraturen ett stort antal uttalanden, och jag har ovan citerat desamma. Här torde platsen vara att i korthet sammanfatta, vad där sagts. LANGERHANS anger, att de hava en avlång kropp, från vilken ett växlande antal utlöpare gå. Av dessa utlöpare går en inåt huden, under det att de övriga äro riktade mot strat. corneum event. efter att först hava förlöpt parallellt med hudens yta. Utlöparna sluta med en lätt uppdrivning. Cellerna färgas mörkviolett till blåsvart. Till ungefär samma resultat synes ПОДКОПАЕВ hava kommit. Dock anser denne forskare dels, att utlöparna förgrena sig och dels, att uppdrivningarna icke äro deras ändar. Hos EBERTH träffa vi först uppgiften, att utlöparna anastomosera.

Till liknande resultat synas de övriga forskarna hava kommit vad cellernas utseende beträffar, och striden har dels rört sig om sambandet mellan cellerna och nerverna, dels tolkningen av de så föreliggande bildningarna.

Själv har jag i fig. 1 avbildat ett antal av dessa celler. Anmärkas bör här svårigheten, att absolut troget återge utlöparnas form och förbindelser, då desamma i de tjocka preparaten framkomma på olika ställen vid olika inställning och ofta synas lagrade över varandra. Ifrågavarande bild synes mig dock giva en tämligen god föreställning om desamma, och jag uppehåller mig därför icke vidare vid dem.

MAYER är den ende före förf., som framställt dessa celler medelst metylenblått så vitt jag kunnat finna. Sedermera har även KREIBISCH beskrivit dem färgade på liknande vis. Jag hänvisar till dessa författares förut citerade arbeten.

I fig. 2 avbildar jag ett antal celler, som genom sin blå färg tydligt skilja sig från de omgivande ofärgade epitelcellerna. Cellkropparna hos de förra äro ungefär

av samma storlek som på de senare, men från de blåfärgade ser man utlöpare slingra sig iväg. Dessa utlöpare äro försedda med varicositeter och av varierande tjocklek. De förbinda de till varierande styrka färgade blå cellerna med varandra. En av de avbildade cellerna saknar utlöpare, möjligen beroende på, att dessa icke falla inom detta snitt. Granskar man själva cellkroppen fränsett utlöparna, så skiljer densamma sig vad formen beträffar föga från de omgivande, här av lätt insedda orsaker något schematiskt framställda epitelcellerna. Det, som i detta fall karakteriserar cellerna såsom LANGERHANS'ska, är dels utlöparna, dels också färgen. Denna är i en av cellerna intensivt djupblå. Av en cellkärna synes intet. I de andra cellerna finner man ett ljusare centrum troligen utgörande cellernas kärna. Periferien är i alla fall mörkare färgad.

Fig. 3 visar en tämligen ljust färgad, päronformad cell, från vars smalare ände tvänne utlöpare utgå. Den ena av dessa framträder endast såsom en rad av tätt liggande korn. Den andra är av varierande tjocklek och försedd med varicositeter. Den slingrar sig iväg mellan några epitelceller och delar slutligen upp sig i ett antal grenar. I samma präparat synas några runda, blåfärgade celler utan utlöpare. Epitelcellerna äro ofärgade liksom bindväven.

Fig. 4 visar ännu några LANGERHANS'ska celler. Även här är cellkroppen till storlek och form lika de övriga epitelcellerna. I densamma kan man iakttaga ett ljusare centrum och en mer intensivt färgad periferi. Utlöparna omspinna epitelceller, äro försedda med varicositeter och bestå i vissa fall endast av efter varandra ordnade korn. En del epitelceller äro pigmenthaltiga.

Fig. 5 visar en epidermisapill inskjutande i den metachromatiskt¹ färgade bindväven. I den f. ö. ofärgade papillen synes ett antal med utlöpare försedda celler. Dessa celler äro färgade i olika nyanser av blått, hava en intensivare färgad periferi och ett ljusare centrum. Till storlek och form likna de epitelcellerna bortsett från utlöparna. Dessa senare bilda nätverk kring de ofärgade epitelcellerna, i det att utlöpare, tillhörande olika celler, övergå i varandra. En del utlöpare synas sammansatta av efter varandra ordnade, tätt liggande, intensivt färgade korn. I andra fall äro kornen mindre tätt liggande och svagare färgade och sålunda finnas övergångar, så att man i de minst utpräglade fallen har svårt att avgöra, om här är fråga om utlöpare eller de svagt framträdande gränserna mellan epitelcellerna.

De LANGERHANS'ska cellerna visa sålunda en stor överensstämmelse i utseendet vid såväl guldchlorid- som metylenblåfärgning. Man erhåller en cellkropp, som rätt mycket påminner om de övriga epidermiscellerna såväl vad form som storlek beträffar. Denna grundform omgestaltas dock genom uppträdandet av flera eller färre utlöpare, som utstråla mellan epitelets övriga celler. Dessa utlöpare äro av varierande tjocklek inom olika sträckor och försedda med varicositeter. I vissa fall synas de sönderfalla i efter varandra ordnade korn. Vad cellernas färgning beträffar är denna liksom utlöparnas av mycket varierande intensitet, och vi se alla över-

¹ Den använda färgen visade sig sedan starkt förorenad av metylenazur.

gångar från celler, som genom en intensiv färgning skilja sig från det mer eller mindre ofärgade epitelet till sådana, som endast antagit en knappt skönjbar färgnyans. Inom cellkroppen ser man i många fall ett ljusare parti, som kommer en att tänka på en kärna, vilken i mindre grad än cytoplasman upptagit färg. I andra fall kan man ej iakttaga någon dylik kärna.

Huru färgas epidermis övriga beståndsdelar vid dessa färgningar?

I litteraturen finnas, som jag genom talrika citat ovan visat, en mängd uttalanden härom, särskilt vad guldchloridfärgningen beträffar. Där omtalas huru man erhåller olika färgnyanser från mera ljust rödvioletta till mörka massiva fällningar, som störa våra iakttagelser. I samma riktningar gå mina iakttagelser. Epidermiscellernas protoplasma har förmåga att reducera guldchlorid. Men denna reduktion äger icke rum med en konstant lagbundenhet utan uppträder dels i olika grad vid olika koncentration av de använda saltlösningarna, dels ock mycket varierande vid användande av en och samma saltkoncentration. För att förstå detta måste vi komma ihåg, att de tunga metallsalterna endast med svårighet och långsamt intränga i vävnaderna. Detta nödvändiggör, att vi vid färgningen använda oss av mycket små hudbitar. Men därmed följer ock, att variationerna i dessa bitars storlek endast behöga vara små, för att det skall inverka på resultatet. Vilka banor metallsalterna följa vid sitt inträngande veta vi icke, men tydligt är, att de ytligast liggande partierna äro de, som lättast bliva genomdränkta, och vid reduktionen få vi därför också där de intensivaste färgningarna. Till djupet av hudbiten tränger metallsaltet med större svårighet, och färgningen av epitelcellerna och nervtrådarna blir här mera oregelbunden och kommer sålunda för oss att framstå såsom mera nyckfull.

Vid metylenblåfärgning är förhållandet analogt. Jag har här avbildat en del preparat, som visar detta. De äro alla färgade med samma färgkoncentration. Fig. 6 visar en metylenblåfärgning av epidermis. Vad, som här frapperar är, att det är protoplasmat, som är färgat, under det att cellkärnorna äro ofärgade. Tydligt är att denna färgning icke skett enligt principen syra — bas, ty då skulle kärnorna ha färgats av den basiska färgen. Metylenblått användes ju i den histologiska färgtekniken i stor utsträckning på grund av sina basiska egenskaper och tillhör våra bästa kärnfärgningsmedel. Denna bild överensstämmer däremot fullständigt med den man erhåller vid färgning medelst kaliumpermanganat och skulle sålunda vara att räkna till vad UNNA kallar reduktionsfärgningar¹. I det avbildade präparatet lägger man vidare märke till den nyckfullhet, varmed färgningen ägt rum. Inom vissa partier har epitelcellernas protoplasma antagit en intensiv blåfärgning, där kärnorna framträda såsom nära nog ofärgade, ovala öar. (Kärnornas svagt blå. ton torde bero på preparatets relativa tjocklek, 30 μ , med över- resp. underlagring av blåfärgad protoplasma.) Inom andra partier är protoplasmat nära nog ofärgat och företer endast den ovan nämnda svaga,

¹ Se vidare kap. II.

blå tonen. Mellan dessa ytterligheter finnas alla övergångar. Dylika intensiva blåfärgningar av präparatet anträffas huvudsakligen i kanterna av snitten, där färgen haft lätt att tränga in. Längre in träffar man mera enstaka celler färgade. Dylika celler avbildar jag i Fig. 7. Även här är det protoplasmat som blivit färgat, under det att cellkärnorna äro ofärgade. Färgningen varierar i intensitet liksom i det föregående preparatet. Utom cellerna hava även en del mellan epitelcellerna belägna rader av korn blivit färgade. Dessa kornrader äro av varierande täthet, och i vissa fall synas de nära nog sammanflyta till linjer. En del av de färgade cellerna äro pigmenthaltiga. I fig. 8 slutligen avbildar jag ett antal celler, av vilka en del utan vidare torde vara att karaktärisera som epitelceller, andra åter genom korta utlöpare påminna om LANGERHANS'ska celler. Preparatet är ytskuret och i snittet faller en del av den subepiteliala bindväven med några därstädes förlöpande nervtrådar, som genom den sålunda uppkomna överlagringen nästan se ut att träda i förbindelse med vissa blåfärgade epitelceller. I detta som i andra preparat har jag kunnat iakttaga huru epiteltrådarna (Epitelfasern UNNA) färgats blå.

Sammanfatta vi sålunda det ovan sagda, kunna vi som svar på den uppställda frågan säga, att epitelcellerna färgas med såväl guldklorid- som metylenblåmetoderna, men att denna färgning är ytterst nyckfull, i det att ibland av hela epitelet endast vissa celler eller delar därav bliva färgade. I detta fall kunna genom färgning av cellgränser eller event. mellan cellerna förlöpande nervtrådar bilder framkallas, som starkt påminna om LANGERHANS'ska celler.

Återstår så till besvarande tvenne frågor: »Kunna vi ur vad som ovan framkommit förklara någon eller några av de teorier, som uppställts rörande de LANGERHANS'ska cellerna?» och »Kunna vi få några hållpunkter för dessa cellers ställning?» Jag vänder i det följande på ordningen mellan dessa frågor och söker först besvara den sistnämnda.

Frågan om de Langerhans'ska cellernas ställning.

Vad är det, som karaktäriserar de LANGERHANS'ska cellerna? Av det ovanstående torde framgå, att det icke är deras specifika färgbarhet. Jag har förut framhållit, att de icke kunna göras synliga medelst hämatoxylin-, karmin- eller anilinfärgningar. Men icke heller guldklorid- eller metylenblåfärgningarna äro specifika för dessa celler. Utom nervtrådarna kunna de vanliga epidermiscellerna färgas med dessa metoder på alldeles samma sätt som de LANGERHANS'ska cellerna. Det återstår då endast cellernas form. Vid skildringen av de avbildade preparaten har jag sökt visa, huru de LANGERHANS'ska cellernas kropp till formen liknar de vanliga epidermiscellerna. Men även om så i något fall icke är förhållandet kunna vi icke säga, att en viss cells form bestämt avviker från vad som med denna färgning vore möjligt att ernå på basen av de vanliga epidermiscellerna, ty färgningens nyckfullhet sträcker sig icke till variationer mellan olika celler utan olika delar av en och samma cell kunna färgas olika. Detta torde flerstädes framgå ur de bifogade

avbildningarna. Vid studiet av preparaten ser man ej sällan celler, som färgats i en del och blivit ofärgade i en annan. Då dessutom epiteltrådarna och intercellularsubstansen i vissa fall kunna färgas är det tydligt, att variationer i oändlighet kunna uppkomma, och att det är omöjligt att betrakta formen på den LANGERHANS'ska cellkroppen såsom karaktäristisk.

Återstå sålunda cellutlöparna. I det ovanstående har jag visat huru deras färgning varierar. Från olikthjocka med varicositeter försedda trådar finnas övergångar till sådana, som synas bestå av en rad efter varandra liggande korn. Från mycket långa ser man övergångar till sådana, som endast sitta som en kort tagg på cellkroppen. Å andra sidan veta vi, att mellan epitelcellerna gående nervtrådar kunna färgas, att epiteltrådar kunna färgas och att sålunda alla kombinationer kunna uppkomma mellan färgade epitelceller och färgad intercellularsubstans. Huru skall det då vara möjligt att i ett visst fall säga: detta är en LANGERHANS'sk cell, men detta är en epitelcell, som färgats tillsammans med intercellularsubstans och därför endast skenbart har utlöpare. Författaren tilltror sig icke detta utan finner det sannolikare att

De Langerhans'ska cellerna äro intet annat än artefakter framkallade genom färgningens nyckfullhet.

En dylik ståndpunkt synes mig också kunna förklara de uppställda teorierna. »Cellernas» samband med nervtrådarna och den därav orsakade teorien, att de skulle vara perifera ganglieceller ger sig utan vidare, liksom det från vissa motståndare framhållna förhållandet, att man endast relativt sällan ser dessa nervförbindelser. Pigmenthalten förklaras av, att även pigmenterade epitelceller kunna upptaga och reducera ovanstående färger. De av MAYER och STÖHR framhållna övergångarna till vanliga epitelceller få likaså utan vidare sin förklaring. MERKELS (pigmentlösa pigmentceller), ARNSTEINS (vita blodkroppar), KÖLLIKERS (amöboida bindvävsceller) teorier stödjä sig endast på likhet i formen och förklaras sålunda lätt. KREIBISCHS åsikt, att de skulle innehålla förstadier till pigment synes mig skäligen ogrundad. Den gröna färgton han omtalar förklaras enklare genom superposition av en vanlig pigmentcell, då kombinationen av det gulbruna pigmentet och den blå färgen ger en grön ton. Då han talar om den större eller mindre hastighet, varmed cellerna färgas, borde man snarare tala om olika diffusionshastighet. Hans påståenden, att cellernas utlöpare icke äro byggda som nervtrådar, och att man aldrig ser dem fortsätta i en axelcylinder, äro, det förra delvis, det senare helt felaktigt, såsom jag i detta och föregående (13) arbeten visat.

Det resultat, jag i ovanstående granskning kommit till, ansluter sig närmast till den av KROMAYER förfäktade åsikten. Jag är alltså mer än gärna med på att kalla de LANGERHANS'ska cellerna för »reduktionsfigurer» åtminstone i den mån de framställas medelst guldchlorid. Dock anser jag, att en cell bildar grundstommen i denna konstprodukt, och vidare anser jag icke, att de äro analoga »des reticulären fasertragenden Gewebes des Froschepidermis» utan blott och bart konstprodukter.

Icke heller har jag kunnat finna den regelbundenhet i deras uppträdande, varom KROMAYER talar, utan synes det mig påfallande huru ojämnt och nyckfullt de uppträda.

I ännu en punkt avviker min uppfattning från nämnda författares: fast jag iakttagit förbindelsen med nervtrådar och själv förfäktat de LANGERHANS'ska cellernas nervösa natur, måste jag efter vad ovan framhållits taga avstånd från tanken, att de äro ett nervändorgan. Dock måste jag instämma med honom, att det »aus theoretischen Gründen» hade varit önskvärt att de så hade varit.

Ännu en fråga tränger sig på forskaren vid granskningen av ovanstående:

Huru har en sådan mängd av teorier och diskussioner kunnat uppkomma i denna fråga?

Svaret på denna fråga synes mig endast kunna ligga i en bristande objektivitet och en bristande kännedom om de metoder, varav forskaren begagnat sig. Nog synes det åtminstone mig, som om RIBBERT, då han i sin polemik mot v. MOJSISOVICS utropar: »oder dass auch hier das Chlorgold seine Schuldigkeit nicht gethan hatte», alltför mycket uppskattade de egna preparatens förträfflighet. Även synas mig många forskare (CYBULSKY t. ex.) hava alltför kritiklöst godtagit de medelst färgningarna erhållna resultaten.

KAPITEL II.

Om den vitala metylenblåfärgningen av epidermis.

Den vitala metylenblåfärgningen upptäcktes av EHRLICH (38) år 1886. Han antog, att metylenblåts egenskap att färga levande celler berodde på förefintligheten av en svavelatom i färgämnets molekyll. Något starkare skäl för denna uppfattning anför han dock icke. Snart visade sig en hel mängd andra färgämnen hava förmåga att färga levande celler. Dessa färger voro alla basiska. Detta föranledde OVERTON (45), som i ett stort antal försök fastslagit, att de basiska, vitalt färgande ämnena äro lipoidlösliga, under det att ett antal sura och basiska, vitalt icke färgande ämnen äro olösliga i lipoider, att uppställa den teorien, att just färgämnenas löslighet i lipoider vore orsaken till deras förmåga att intränga i levande celler. OVERTON hade nämligen vid sina studier över cellernas osmotiska egenskaper fått den uppfattningen, att cellerna utåt avgränsas av en membran, i vilken lipoider ingå. Till lipoider räknar han i detta sammanhang bl. a. även cholestearin.

Mot OVERTONS tankegång opponerade sig RUHLAND (53). Denne tänkte sig istället, att cellmembranen skulle förhålla sig såsom ett poröst filter med en viss porstorlek och ansåg sig kunna påvisa ett visst förhållande mellan graden av färgämnets dispersion och dess förmåga att intränga i cellen. Detta förhållande visade sig emellertid icke konstant för alla färger resp. celler och för att stödja de svaga punkterna i sin teori antog han vidare, att det i cellerna, för att desamma skola färgas vitalt, måste finnas kroppar, som med färgämnet bilda icke diffusibla föreningar. Han framhåller vidare såsom stridande mot OVERTONS teori, att det finnes icke lipoidlösliga ämnen, som äro vitalfärger, och vidare att det finnes lipoidlösliga färger, som icke färga vitalt. Gent emot den första av de båda sistnämnda iakttagelserna anför HÖBER (42), att OVERTONS teori icke innebär det cellmembranen uteslutande består av lipoider. Den andra anmärkningen finner han allvarligare.

Utan att här ämna ingå på en utförlig undersökning av dessa teorier, vill jag endast påpeka, att RUHLAND finner starkt kolloidala ämnen (*Prune pure*), som raskt intränga i cellerna liksom de äkta basiska färglösningarna, å andra sidan finner han äkta lösningar av andra färger, som icke intränga. Detta synes mig starkt

tala emot den av honom förfäktade »ultrafiltrerteorien». När han (sid. 777) påstår, att en hydrolys av färgämnenä icke äger rum, är detta säkert felaktigt. En del av de bästa vitalfärgämnenä (t. ex. neutralrött) användes inom den analytiska kemien såsom indikatorer, och denna deras användning är just en följd av deras hydrolys. RUHLAND nämner vidare i sina arbeten icke om, att han vid sina försök tagit någon som helst hänsyn till vätejonkoncentrationens inverkan på färgningarna. Detta är, som nedan skall visas, av största betydelse, och man kan överhuvudtaget icke utan ett dylikt hänsyntagande yttra sig om vilka färger, som äro vitalfärger eller icke. I och med detta förfalla emellertid RUHLANDS liksom HÖBERS invändningar mot OVERTONS teori.

OVERTON liksom RUHLAND sysselsätter sig huvudsakligen med frågan: huru kan färgämnet intränga i cellen. Frånsett de ovan gjorda anmärkningarna kommer jag, då mitt material därtill är föga lämpligt, icke att sysselsätta mig därmed. Jag har vid mina försök använt mig endast av metylenblått och sökt studera dess förhållande till epidermiscellerna hos människa och marsvin. En av förutsättningarna vid min undersökning är, att metylenblått under vissa förhållanden intränger i epidermiscellerna, och det är de processer, som avspela sig med det i cellerna inträngda färgämnet, jag i det följande söker utreda. Vi veta nämligen, att den levande vävnaden har förmåga att avfärga metylenblått. I detta hänseende har den tanken syns mig ligga nära till hands, att det är det av THUNBERG (58) upptäckta enzymet, succinodehydrogenas, som är verksamt. Vi veta vidare icke enligt vilka lagar färgämnet fördelas mellan den vätska, vari det är löst och cellen. Här kan man tänka sig olika möjligheter. Färgämnet kan fördela sig enligt lagarna för lösta ämnen, varvid lösningsmedlet (vatten, saltlösning) utgör en fas och cellprotoplasmat en annan¹. Man kan även tänka sig, att det i cellen inträngda färgämnet adsorberas av någon eller några inom cellerna befintliga kroppar. Färgupptagningen skulle då följa en adsorptionskurva. Vi kunna vidare tänka oss, att det i cellen inträngda färgämnet där ingår en reversibel eller icke reversibel kemisk förening, och att färgupptagningen bestämmes av de sig därvid utspelande processerna. Slutligen kunna vi tänka oss, att en kombination av tvenne eller alla dessa processer föreligger. Jag bortser därvid från den av OVERTON antagna lösligheten i cellmembranen och detta på följande grunder. Rörande de osmotiska förhållandena hos de djurceller, som äro försedda med en mikroskopiskt iakttagbar membran (kuticula, pellicula, krusta) känna vi intet, och vi veta ej, om OVERTONS iakttagelser beträffande dessa celler äga giltighet. Hos de övriga cellerna, där dessa iakttagelser kunna tillämpas, kan man däremot icke ens med de starkaste förstoringar iakttaga någon membran. Finnes en sådan, måste den således vara ytterst tunn. I varje fall måste den färgmängd, som upptages av cellmembranen, vara av en sådan storleksordning, att den, i jämförelse med den mängd, som upptages av cellprotoplasmat, kan försummas.

¹ Detta innebär helt naturligt icke att cellprotoplasmat skulle vara en homogen lösning utan endast att de olika faser, varav den består, vid försöket skulle samverka vid färgens fördelning mellan cellprotoplasmat och färglösningen.

Den frågeställning, jag i det följande ämnar betjäna mig av, blir därför:
 1. Huru färgas det levande epidermis av metylenblått? 2. Huru förhåller sig det levande epidermis till metylenblått vid förhindrat lufttillträde? Upptages leucometylenblått av epidermiscellerna? Finnes succinodehydrogenas i huden? Är färgämnet adsorption av enzymet av betydelse för färgupptagningen? Efter vilka lagars försiggår färgupptagningen? Huru inverka förändringar av vätejonkoncentrationen på färgupptagningen? Är det färgsaltet eller färgbasen, som intränger i cellerna?

Huru färgas det levande epidermis av metylenblått?

Denna fråga, som här endast för fullständighets skull upptages, har redan besvarats i föregående kapitel. Jag erinrar endast om, att epidermiscellerna färgas medelst den vitala metyletblåmetoden liksom även intercellularsubstansen. I det jag hänvisar till figurerna 2—8, påminner jag om ifrågavarande färgnings nyckfullhet. I hudbitarnas periferi, där färgämnet har lätt tillträde, färgas hela cellprotoplasmat jämte intercellularsubstansen, såsom i fig. 6 visats. Kärnorna förbliva där emot ofärgade. I de längre från hudbitens periferi belägna delarna av epidermis är färgningen ofullständig, i det att här endast enstaka celler eller delar av sådana färgas. Även intercellularsubstansen färgas ofullständigt. Det hela ter sig — genom vår ringa kännedom om de banor, på vilka färgämnet intränger i hudbiten och färgningens övriga principer — nyckfullt. Om dessa banor tillåta mig de gjorda erfarenheterna endast att säga, att hornlagret och därintill liggande lager synas erbjuda det största motståndet mot färgens inträngande. Jag stöder det antagandet på den iakttagelsen, att bindväven ofta är fullständigt färgad (metakromatiskt), under det att epidermis synes mycket ofullständigt färgad. Färgämnet bör alltså hava inträngt genom bindväven.

Huru förhåller sig det levande epidermis till metylenblått vid förhindrat lufttillträde?

För att kunna besvara denna fråga betjänade jag mig av den av THUNBERG angivna försöksanordningen. Då jag icke kunde hoppas, att från levande människohud med dess tunna överhud lyckas lösdissekera ett tillräckligt stort stycke av denna senare utan att samtidigt få bindväv med, och då vidare operationen skulle ha varit alltför smärtsam, betjänade jag mig vid försökets anställande av huden på ett i agone liggande svin. Från densamma lösskuros medelst en skarp kniv ytterst tunna epidermisstycken. Ett godtyckligt taget sådant undersöktes i mikroskopet och konstaterades vara bindvävsfritt, varefter hela massan noggrant sönderklippes till en mosliknande massa. Av denna massa nedfördes 0,5 gr. i vardera av tvenne THUNBERG'ska vakuümör. I röret I tillfogades 0,9 cm.³ vatten och 0,1 cm.³ metylenblålösning (1 %). I röret II tillsattes 0,8 cm.³ vatten och 0,2 cm.³ av ovannämnda metylenblålösning, varefter båda rören enligt THUNBERG's föreskrift evakuerades och kl. 7,28 nedsattes i ett 40° varmt vattenbad. Resultatet framgår av nedanstående tabell över försöket.

	Rör I	Rör II
kl. 7,28	—	—
» 7,30	+	+
» 7,32	++	+
» 7,38	+++ ¹	+
» 7,48	+++ ¹	+++ ¹

Detta försök visar, att epidermis har förmåga att avfärga metylenblått. I och för sig innebär detta intet överraskande. Redan EHRLICH hade iakttagit, huru metylenblåfärgade nerver avfärgades, när lufttillträdet var förhindrat, och detsamma har ju sedan i talrika experiment fastslagits av THUNBERG vad musklerna beträffar. Det klargör emellertid för oss luftens betydelse för den vitala metylenblåfärgningen av epidermiscellerna och den för oss ett steg längre bland de frågor, som behöva uppklaras för att vi skola förstå det här till behandling upptagna problemet. Om nämligen epidermiscellen avfärgar metylenblålösningen är det tydligt, att det blir leucometylenblått, som kommer att i första hand avlagras i cellen, och det är först vid luftens tillträde cellen antager den blå färg, som gör det möjligt för oss att iakttaga, att färgämnet inträngt. Det uppstår då frågan: kanske bildas det leucometylenblått redan utanför epidermis, så att det är i denna form färgämnet intränger däri. ROSIN talar om nervträdens stora affinitet till leucometylenblått, som skulle förmå den att framställa och i sig upplagra leucometylenblått. Håller man så strängt på denna affinitet, kan man mycket väl tänka sig, att det är vävnaderna utanför nervtråden, som äro orsaken till att leucometylenblått bildas. Detta skulle sedan kunna föras i närheten av nerven och upptagas av denna. Emellertid är det här frågan om epidermiscellerna, och där kan samma resonnemang föras. Vi kunna t. ex. tänka oss, att det i bindväven, i corium, bildades leucometylenblått, som sedan upptages av epidermiscellerna. Ett sådant resonnemang torde efter det nyss anförda experimentet förefalla långsökt, då jag nyss framhållit, att epidermiscellerna själva kunna framställa leucometylenblått. Emellertid få vi ej glömma, att vi i epidermis hava talrika intercellulärt förlöpande nervtrådar. Dessa kunna vi vid det ovannämnda försöket ej utesluta, och här föreligger då en med den ovan anförda anamöjlighet. Kanske uppstår det intercellulärt, i följd av de där förlöpande nervtrådarna, leucometylenblått, som sedan upptages av epidermiscellerna, och kanske få dessa sålunda först sekundärt sin halt av färgämne. För att klarlägga detta måste vi besvara frågan:

¹ Vid försökets avslutande funnos några enstaka mycket små och mycket svagt blåfärgade partiklar, tydligen härrörande från någon förorening, här l. d. Dessa läto icke avfärga sig trots försökets förlängning betydligt över den ovan angivna tiden. De kunna dock icke anses inverka på försökets beviskraft. + betyder i enlighet med THUNBERGS beteckning tydlig avfärgning, ++ stark avfärgning och +++ fullständig avfärgning.

Uptages leucometylenblått av epidermiscellerna?

Det har varit förenat med stor möda att utföra det experiment, som möjliggör för mig att besvara denna fråga. Min första tanke, att det helt enkelt skulle gå att i vacuum blanda rongalitvitt med fysiologisk koksaltlösning till önskad utspädningsgrad visade sig felaktig. Jag kunde icke i tillräcklig grad befria rören från luft utan vid utspädningen av rongalitvittet och den därmed följande förtunningen av den reducerande substansen rongalit, fick jag genast blåfärgning. En sådan måste emellertid undvikas, då jag ville behandla preparatet med leucometylenblått. Bättre gick det icke om jag först uppkokade den fysiologiska koksaltlösningen och sedan gjorde vacuum. En blåfärgning uppträdde dock om än minimal. Att framställa leucometylenblått i fast, lufthållbar form enligt P. LANDAUER och H. WEIL (43) misslyckades, möjligen beroende på att jag icke kunde erhålla petroleumeter utan måste försöka med ersättningsmedel.

Svårigheterna löstes så, att jag medelst det av THUNBERG angivna förfarandet på fysiologisk väg avfärgade metylenblått, varefter den avfärgade vätskan överfördes i ett rör, där preparatet låg i fysiologisk koksaltlösning under vacuum. Vid avfärgningen av metylenblåtlösningen kunde jag genom doc. C. E. OHLSSONS älskvardhet använda mig av en på ännu ej publicerat sätt extraherad enzymlösning av ovanlig styrka. Försöket utfördes på följande sätt:

I ett vakuumrör (a^1) nedfördes följande blandning (m):

1 cm^3 0,9 % NaCl-lösning

2 » enzymextrakt

1 » 10 % kaliumsuccinat

1 dr. mättad lösning av metylenblått i 0,9 % NaCl,

varefter röret på vanligt sätt evakuerades och nedsattes i 40° vattenbad till avfärgning inträtt. I vardera av tvänne andra rör, a och b nedfördes en nyss tagen hudbit, i båda rören av ungefär samma storlek, och dessutom 1 cm^3 0,9 % NaCl-lösning. Båda rören evakuerades, varefter sidoröret på röret a medelst gummislag sammanfogades med sidoröret på a^1 . I fogen insattes dock först ett T-rör, som gjorde det möjligt att evakuera de ovannämnda sidorören och sammankopplingsanordningen. När detta skett öppnades kranarna i rören a och a^1 , så att systemet av lumina stod öppet utan att luften därvid hade tillträde. Genom att värma röret a^1 i handen och samtidigt giva systemet lämplig lutning överfördes vätskan i a^1 i röret a. Detta lyckades utan att någon som helst iakttagbar blåfärgning uppträdde. Sidoröret fylldes enligt THUNBERGS föreskrift med vatten.

Samtidigt öppnades röret b och i detsamma infördes den ovannämnda blandningen (m). Detta rör var avsett som kontrollrör och lämnades i öppen förbindelse med luften. Evakueringen av detta rör gjordes för att utesluta, att epidermiscellerna vid denna procedur kunde skadas, så att de blevo oförmögna att vitalfärgas.

Efter 4 timmar öppnades båda rören, och sedan vätskan raskt avhållts, påfylldes en fixeringsvätska bestående av

10 % fosforvolframsyrelösning 4 delar
 och mättad pikrinsyrelösning 6 delar.

Denna förut ej publicerade blandning har jag vid tidigare i annat syfte företagna arbeten funnit vara en god fixeringsvätska för metylenblått. Den uppkomna fällningen är olöslig i vatten, alkohol och xylol. Jag återkommer nedan till densamma.

I fixeringsvätskan fingo preparaten ligga i 8 timmar, varefter de på vanligt sätt inbäddades i paraffin och skuros i serie. Snitten fingo sedan ligga fritt i luften under 24 timmar, innan de behandlades med xylol och kanadabalsam.

Anmärkas bör här, att, när det leucometylenblått innehållande röret öppnades, en ögonblicklig blåfärgning av vätskan inträdde. Detta gjorde, att den i vätskan liggande hudbiten under ungefär $\frac{1}{2}$ minut kom i beröring med en metylenblålösning. Därför visade snitten en svag blåfärgning av bindväven i den allra yttersta kanten. Någon färgning av epidermiscellerna har jag däremot i de av dessa preparat förberedade snitten ej kunnat iakttaga.

Innan jag ingår på denna fråga, anser jag mig likväl skyldig att anföra ett tidigare utfört experiment, som visar den ovannämnda fixeringsvätskans egenskaper. Jag var sysselsatt med kärlinjektion av metylenblått och hade injicerat en groda från hjärtat. Bland andra organ voro lever och tarmar kraftigt blåfärgade. De nedfördes i sin helhet i den ovannämnda fixeringsvätskan, där de fingo ligga under 3 dygn, varefter stora stycken av levern inbäddades i paraffin på vanligt sätt. Då jag skulle skära preparatet fann jag, att endast ett ytterst tunt, närmast ytan liggande lager av organet var blåfärgat. Det inre hade däremot den för pikrinsyrefixerade vävnader vanliga, gula färgen. Sedan jag skurit ned en bit i organet, lät jag paraffinklotsen sitta kvar i mikrotomen till påföljande dag, då jag vid samma tid kom att undersöka densamma. Den synliga delen av leverbiten var då fullständigt blåfärgad. Vid insnitt visade sig detta liksom förut endast vara fallet med ett ytterst tunt ytlager, under det att levern i det inre alltjämt var gulfärgad. Detta försök har anförts för att visa

- 1) att den ovannämnda blandningen kan fixera leucometylenblått, så att det blir olösligt i vatten, alkohol och xylol;
- 2) att den därvid uppkomna föreningen är färglös eller möjligen gul;
- 3) att den i luften tämligen snart antager blå färg.

Fastslåendet av dessa tre punkter är nämligen för förståendet av min bevisföring i det följande nödvändig. Här bör tilläggas, att de ovannämnda egenskaperna icke äro något för denna fixeringsvätska säreget. Desamma tillkomma även (se DOGIEL, 37) ammoniummolybdatet. Fördelen med min blandning är dess större inträngningsförmåga (pikrinsyran).

Efter ovan omtalade erfarenheter är det tydligt, att jag, då jag fixerat de båda hudbitarna i denna blandning kan vara säker, dels att, om leucometylenblått upptagits av de levande epidermiscellerna, jag kan fixera detsamma därstädes, och dels att detta sålunda fixerade leucometylenblått, när snitten fått ligga i luften, skall bli synligt. Skulle vakuum eller de i färgblandningen närvarande ämnena förhindra

leucometylenblålösningens inträngande i cellerna, bör detta även ske med metylenblålösningen i kontrollröret.

Emellertid visade det sig, att den med leucometylenblått behandlade hudbiten var fullständigt ofärgad så när som på ovannämnda svagt färgade och smala, blå, kant av bindväven. Denna blå kant på bindväven måste anses hava uppkommit därigenom, att något blåfärgad vätska häftat vid hudbiten i det ögonblick den fixerades. Den har i varje fall intet att göra med vitalfärgningen av epidermiscellerna.

I kontrollprovet visade sig epidermiscellerna färgade på samma sätt som förut beskrivits och som i figg. 2—8 avbildats. Detta var ju även att vänta.

Försöket ger oss svar på den uppställda frågan. Leucometylenblått upptages icke under de anförda betingelserna i epidermiscellerna¹. Vi kunna således även utesluta, att cellerna skulle upptaga ett leucometylenblått, som bildats intercellulärt eller i bindväven. Reduktionen torde äga rum först vid färgämnets inträngande i cellerna eller därefter.

Finnes succinodehydrogenas i huden?

Genom att till ett fint mos sönderklippa marsvinshud, vilken så noga som möjligt befriats från hår, och sedan söndermala densamma ytterligare med glaspulver, lyckades jag sönderdela epidermiscellerna, så att största delen av bärnstenssyran kunde uttvättas. Resten försvann under loppet av ett dygn, då preparatet lämnades i rumstemperatur. Av denna mos avvägdes 1 gr., som därefter bragtes i ett vacuumrör (1) tillsammans med 2 cm³ av en lösning innehållande 0,05 ‰ metylenblått och 5 ‰ kaliumsuccinat. I ett kontrollrör (2) bragtes 1 gr. söndermosad marsvinshud och 2 cm³ 0,05 ‰ metylenblålösning utan kaliumsuccinat. I båda rören gjordes vacuum, varefter de placerades i ett 38° vattenbad kl. 6,20.

	Rör 1	Rör 2
kl. 6,20	—	—
kl. 6,40	+	—
kl. 7,00	++	—
kl. 7,08	+++	—

Under den tid, varpå vätskan i röret 1 avfärgades fullständigt, inträdde ingen iakttagbar avfärgning i röret 2. Då ett 10-tal försök utfallit på liknande sätt, anser jag mig berättigad att draga den slutsatsen, att ett med THUNBERGS succinodehydrogenas identiskt enzym förefinnes i huden. THUNBERG har muntligen meddelat mig, att han i muskulatur påvisat ett antal andra enzym med liknande verkan men med andra substrat och troligt är väl att desamma även finnas i huden. Däröver har jag dock icke gjort några undersökningar.

¹ Vätejonkoncentrationen i färgvätskan var under försöket 10⁻⁸—10⁻⁹.

Vi veta alltså, att epidermis har förmåga att avfärge metylenblått och att i huden finnes enzym med denna egenskap. Vi veta vidare, att en sådan avfärgning äger rum vid vital metylenblåfärgning. Det torde då få anses vara ytterst sannolikt, att sistnämnda avfärgning är en enzymatisk process.

Är färgämnets adsorbtion av enzymet av betydelse för färgupptagningen?

BAYLISS (35) antager, att enzymets verksamhet sönderfaller i tvenne faser: 1) en adsorbtion av substratet från enzymets sida och 2) en kemisk påverkan av substratet. Det kunde nu tänkas, att en dylik adsorbtion reglerade färgupptagningen. De försök, jag närmast anför för att visa, att så icke är förhållandet, äro icke bindande, utan kunna i bästa fall endast sägas utgöra sannolikhetsbevis. Då de ur andra synpunkter kunna hava ett visst intresse, har jag emellertid icke velat utelämna desamma ur denna redogörelse. Mina försök gjordes i avsikt att få veta om ämnen som upphävde enzymets verkan, samtidigt omöjliggjorde en med vitalfärgningen analog tingering av cellerna. Jag anför här ett försök med alkohol och ett med formol.

Alkoholförsök. Serie 5.

Kontrollprov: 0,5 gr. malen och rentvättad hästmuskulatur och 1 cm³ 0,05 ‰ metylenblålösning innehållande 0,5 ‰ kaliumsuccinat nedfördes i ett vakuumrör, vilket evakuerades och placerades i 38° vattenbad.

Provet avfärgades efter 7 minuter.

Försök: Av samma muskulatur avvägdes sex portioner på vardera 0,5 gr. Dessa portioner nedfördes var för sig i provrör tillsammans med 5 cm³ absolut alkohol under 30 minuter. Därefter avhölldes alkoholen och muskulaturen tvättades 30 minuter med vatten, som upprepade gånger ombyttes.

De sålunda behandlade muskelpreparaten nedfördes i vakuumrör. I rör 1—4 tillsattes 1 cm³ av den vid kontrollprovet omnämnda metylenblå-kaliumsuccinatlösningen. I rör 5—6 tillsattes 1 cm³ 0,05 ‰ metylenblålösning men intet kaliumsuccinat. Samtliga rör evakuerades och placerades i 38° vattenbad.

Rör	1	2	3	4
Vattenbad kl.	7,1	7,2	7,3	7,4
+	7,10	7,12	7,15	7,10
++	7,26	7,28	7,32	7,28
+++	7,35	7,36	7,40	7,34
Avfärgningstid:	34	34	37	30 min.

Rör 5—6, som placerades i vattenbad kl. 7,5 resp. 7,6 visade ännu efter 14 timmar ingen säker avfärgning.

Formolförsök. Serie II.

Kontrollprov: anordnat såsom motsvarande prov vid motsvarande alkoholförsöken.
Avfärgning på 8 min.

Försök: Av den vid kontrollprovet använda hästmuskulaturen avvägdes 5 portioner vardera 0,5 gr. Dessa portioner behandlades var för sig under 30 minuter med 5 cm³ 20 % svagt alkalisk formaldehyd och tvättades därefter i aq. dest., som upprepade gånger byttes under 30 minuter. Muskelpreparaten överfördes därefter i vakuumrör, vardera tillsammans med 1 cm³ av den vid alkoholförsöket nämnda metylenblå-kaliumsuccinatlösningen. Rören evakuerades och placerades i vattenbad. Efter 12 timmar ingen iakttagbar avfärgning.

De anförda försöken visa, att alkoholbehandling av muskulaturen icke förstör enzymet utan endast förlångsamar dess verkan. Detta synes icke stämma med BATELLIS och STERNS (34) iakttagelser rörande syrgasupplagringen. Formoldäremot upphäver vid denna koncentration enzymets verkan. I själva verket förstöres denna redan vid en formaldehydkoncentration av 2 % (starkare utspädningar hava icke använts).

I andra försöksserier har jag behandlat hud, tagen på vanligt sätt från levande människor, med abs. alkohol resp. 20 % formaldehyd och efter tvättning i dest. vatten överfört preparaten i metylenblålösningar av samma koncentration, som jag vid vitalfärgning f. ö. använt. Färgningstiden har varierat mellan 4 och 6 timmar och försöken hava dels gjorts vid rumstemperatur och dels vid 37° i termostat. Det visade sig därvid, att epidermis i de alkoholbehandlade preparaten var ofärgad. I de formolbehandlade preparaten erhöles däremot inom epidermis en diffus protoplasmafärgning liknande den vid vitalfärgning.

Mot dessa försök kan anföras, att alkohol och formalin på olika sätt påverka cellernas äggvita, lipoider m. m. och att de sålunda icke äro jämförbara. Anmärkningsvärt har det dock synts mig vara, att alkoholen, som icke förstör enzymet men väl löser lipoiderna, omöjliggör protoplasmats färgning, under det att formalinet, som förstör enzymet men icke lipoiderna, icke inverkar på cellprotoplasmats färgbarhet. Försöken synas mig även tala mot antagandet att det skulle vara enzymets adsorption av färgämnet, som är bestämmande för färgupptagningen.

Enligt vilka lagar sker fördelningen av färgämnet mellan färgvätskan och cellprotoplasmat?

Vid försöken angändes en lösning, som på 1000 cm³ aq. dest. innehöll:

Primärt kaliumfosfat	1 gr.
Sec. natriumfosfat	5,3 gr.
Koksalt	8,5 gr.

Denna lösning är isotonisk med en 0,9 % koksaltlösning och har samma vätejonkoncentration som vatten, $P_H = 10^{-7}$. Vätejonkoncentrationen kontrollerades kolori-

metriskt. Till saltlösningen fogades metylenblått, och den sålunda erhållna färglösningen fördelades på 100 cm³s kolvar och späddes med den ovan nämnda saltlösningen, så att kolvarna kommo att innehålla:

Kolv 1	1 del metylenblått på 20000 delar vatten
» 2	$\frac{1}{2}$ » » » » » »
» 3	$\frac{1}{4}$ » » » » » »
» 4	$\frac{1}{8}$ » » » » » »
» 5	$\frac{1}{16}$ » » » » » »
» 6	$\frac{1}{32}$ » » » » » »

Av dessa färglösningar avmättes 20 cm³, som övefördes i provrör. Provrören innehålla således

Rör 1	1 mgr. metylenblått
» 2	$\frac{1}{2}$ » »
» 3	$\frac{1}{4}$ » »
» 4	$\frac{1}{8}$ » »
» 5	$\frac{1}{16}$ » »
» 6	$\frac{1}{32}$ » »

Till vardera av rören sattes 1 gr. marsvinshud. Denna var tagen av ett nyss dödat marsvin, befriad från tvärstrimmig muskulatur och i möjligaste mån från hår. Sedan sönderklippes den i så små stycken som möjligt och tvättades under 1 timme med fysiologisk koksaltlösning. Denna tvättning företogs för att ytterligare befria huden från hår och i någon mån från fett och blod.

Provrören sattes genom ett system av korkar och glaströr i förbindelse med varandra, så att en luftström kunde sugas genom vätskan i desamma. Detta dels i avsikt att förhindra den enzymatiska avfärgningen dels för att få vätskan och hudbitarna omblandade under försöket. Det hela sattes i förbindelse med en vattensug under en tid av 20 timmar, till vilken tid jag ansåg mig böra begränsa försöket. Därefter centrifugerades rörens innehåll, och färglösningen avhölldes. Det visade sig därvid, att av densamma extraherats en del äggviteämnen, vilka gjorde det omöjligt att jämföra färgerna i de ursprungliga och de vid försöket använda lösningarna. För att bortskaffa dessa sattes 2 droppar koncentrerad ättiksyra till varje rör, varefter äggvitan flockade ihop sig, så att den kunde centrifugeras ifrån. Färgstyrkan bestämdes genom jämförelse med de ursprungliga lösningarna dels medelst J. DUBOSQ's kolorimeter, dels också därigenom, att dessa lösningar späddes till olika färgkoncentrationer i provrör, som därefter jämfördes med den vid försöket använda färglösningen. På detta sätt kunde jag approximativt bestämma huru mycket färg, som återstod i sistnämnda lösningar, och genom en enkel subtraktion huru mycket, som upptagits av huden. För att giva exempel på de erhållna resultaten anför jag här.

Serie 1. Försökstid 20 timmar.

	Kolorimeterbestämning	Provrörsavläsning	Upptaget
Rör 1	27 % kvar	35—40 %	omkring 65 %
» 2	27 % »	35—40 %	» 65 %
» 3	33 % »	40—45 %	» 60 %
» 4	45 % »	50—55 %	» 50 %
» 5	44 % »	45—50 %	» 50 %
» 6	45 % »	50—55 %	» 50 %

Då den använda metoden givetvis är behäftad med stora felkällor, få de anförda resultaten endast betraktas såsom approximativa. De visa emellertid, att färgupptagningen är i procent uttryckt ungefär lika stor ur den svagaste använda lösningen som ur den starkaste. En avvikelse finnes, i det att ur de svagare lösningarna något mindre färg upptagits än ur de starkare. Denna försiggår vid en lägre koncentration långsammare än vid en högre och detta skulle således kunna förklara, varför ur de mindre mättade färglösningarna mindre färg upptagits än ur de mer mättade. Försöken anser jag bestämt tala mot, att det skulle vara en adsorptionsprocess, som reglerar upptagandet. Adsorptionsprocessens motsvarande kurva är en parabel, under det att den ur ifrågavarande försök erhållna närmast blir en rät linje. Likaså talar den mot en irreversibel kemisk reaktion. Det återstår då spørgsmålet om det är fråga om en fördelning enligt lagarna för ännenas löslighet i olika medier eller om en reversibel kemisk reaktion. En möjlighet att avgöra detta giva försöken över vätejonkoncentrationens inverkan på färgupptagningen. Då det är osannolikt, att förändringar av vätejonkoncentrationen utanför cellen skulle påverka en kemisk process inom cellerna återstår endast möjligheten, att färgämnet upptages enligt lagarna för ämnens löslighet i olika medier¹.

Vätejonkoncentrationens inverkan på den vitala metylenblåfärgningen av epidermis.

Vätejonkoncentrationens inverkan på färgningsprocesserna har redan tidigare sysselsatt ett antal forskare. ENDLER (40) kommer till det resultatet, att OH-joner utanför celler befordra såväl in- som utträdet av basiska färgämnen i resp. ur de levande cellerna. H-joner däremot motverka färgämnets inträngande. För de sura färger, som intränga i cellerna finner han ett motsatt förhållande. Mot dessa undersökningar kan anmärkas, att ENDLER för att få den önskade vätekoncentrationen använder sådana ämnen som klorvätesyra och natronlut. Frånsett den skada han genom dessa reagens måste tillfoga cellerna, kan han redan av den grunden, att det med dessa lösningar icke går att åstadkomma en under hela försöket konstant

¹ Detta utesluter helt natnrlikt icke fullständigt förekomsten av adsorptions- resp. kemiska processer utan det visar endast att de icke förekomma i sådan utsträckning att de inverka på försöksresultatet.

vätejonkoncentration, icke vara säker om riktigheten av sina resultat. Detta så mycket mer, som han använder så starka utspädningar som tiotusendelsnormala. De i hans lösningar f. ö. ingående salterna kunna därvid icke verka reglerande. RODHE (52) publicerar 1917 ett arbete, där anser sig hava undersökt den inverkan förändringar av vätejonkoncentrationen i det inre av växt- och djurceller kan hava på färgupptagningen. Han anger, att sura och basiska färgämnen sannolikt intränga i alla celler, men att desamma upplagras där, endast om reaktionsförhållandena i cellernas inre äro anpassade efter färgämnet. Cellernas reaktion anser han sig kunna förändra genom att lägga cellerna i sura resp. basiska lösningar. Såsom sådana har han använt de av Michaelis angivna standard lösningarna: blandningar av ättiksyra och natriumacetat samt av primärt och sekundärt natriumfosfat. OVERTON 50, sid. 216) säger: »Aus vergleichenden Untersuchungen war ich dagegen zu dem Schlusse gelangt, dass die Ammoniumsalze ebenso wenig in die noch intacten Zellen eindringen wie die übrigen Alkalisalze oder doch nur äusserst langsam.» Detta citat visar, att RODHE icke förändrat reaktionen inom de celler han undersökt annat än i den mån den kunnat påverkas av den lätt inträngande ättiksyran. Då denne författare dessutom anger, att han direkt kunnat jämföra cellfärgningar »mit den Farbtönen der Standardlösungen», och då han vidare anser sig dessförinnan kunna koncentrera det i cellen upptagna färgämnet genom att enligt HÖBER framkalla plasmolys medelst 10 %-ig kaliumnitratlösning, synas mig hans resultat alltför opålitliga för att man därvid skulle kunna fästa avseende. L. PELET och N. ANDERSEN (51) undersökte det inflytande syror (klorväte-, svavel- och fosforsyra) och baser (natronlut) hava på färgningen av ull medelst kristallponceaus och metylenblått. Han kommer till det resultatet, att av en basisk färg mer upptages ur en basisk lösning än ur en sur. För sura färger gäller motsatsen.

Vid de försök jag anställt över vätejonkoncentrationens inverkan på metylenblåupptagningen i epidermis har jag använt mig av människohud. Mina lösningar hava beretts enligt SÖRENSENS (55) tabeller och sedan kontrollerats, i vissa fall kolorimetriskt, i andra elektrometriskt. Försöken kunna indeles i tvenne grupper, en, där jag inom vissa gränser förändrat vätejonkoncentrationen endast utanför cellerna och en annan, där jag även sökt påverka densamma såväl inom som utom cellmembranen. Detta har kunnat ske genom användande dels av lösningar innehållande alkalifosfater, vilka enligt OVERTON icke genomtränga cellmembranen, dels av ättiksyre-natriumacetatlösningar och ammoniak-klorammonium-lösningar. Av dessa ämnen tränga ättiksyra och ammoniak lätt in i cellerna. Några uppgifter angående natriumacetatets förhållande har jag icke kunnat erhålla annat än de ovan beträffande alkalisalter efter OVERTON citerade. Det är därför troligt, att man vid användning av ättiksyre-acetatblandningar få en större vätejonkoncentration inom cellerna i den till försöket använda lösningen. Man kan alltså vid dessa försök endast vara säker om, att man ökat vätejonkoncentrationen inom cellerna, men det måste lämnas därhän hur mycket. Vad åter ammoniak-klorammoniumlösningarna beträffar, anger BAYLISS (35), att klorammonium intränger i cellerna. OVERTON anser, att detta inträngande i

varje fall endast försiggår långsamt, och det är därför vid dessa försök möjligt, att vi sänka vätejonkoncentrationen mer än vad som anges av lösningens vätejonkoncentration. Av färgningsresultaten kan man dock sluta till att vätejonkoncentrationen inom cellerna vid den tidpunkt, då färgämnet inträngt dit icke reglerats uteslutande av den inträngda ammoniaken. Vid en vätejonkoncentration lägre än 10^{-9} visar nämligen erfarenheten, att metylenblått i stor utsträckning omvandlas i en rödviolett produkt (metylenazur?). Vid denna vätejonkoncentration i försöksvätskan få vi också en rödfärgning av cellerna, vilket icke är fallet vid en högre vätejonkoncentration i nyssnämnda vätska.

Vid lösningarnas beredning har använts 0,1 molar natriumhydrat, ättiksyre- och klorammoniumlösningar samt 15-delsmolara fosfatlösningar. För att göra de så erhållna blandningarna isotoniska med en 0,9 %ig koksaltlösning tillfogades en för varje fall beräknad mängd molar klornatriumlösning. Vid beräkningen av denna mängd togs hänsyn endast till de i cellerna icke inträngande salterna, således icke till ättiksyra och ammoniak, som lätt intränga. Klorammonium betraktades i detta hänseende, på grund av dess långsamma inträngande, likvärdigt med de av cellmembranen icke genomsläppliga salterna. De använda lösningarna fingo därför följande utseende (uttryckt i cm^3):

Fosfatlösningar.

Kolv.	Primärt fosfat. $\frac{\text{m}}{15}$	Sekundärt fosfat. $\frac{\text{m}}{15}$	Koksalt. $\frac{\text{m}}{1}$	Uppmätt vätejonkonc.
I	64	2	7,8	$10^{-5,11}$
II	48	12	6,7	$10^{-6,08}$ — $10^{-6,18}$
III	20	40	5,6	$10^{-6,8}$ — $10^{-6,98}$
IV	2	64	5,4	10^{-8}

Acetal-ättiksyre samt natrium hydrat- klorammonium lösningar.

Kolv.	Natriumacetat. $\frac{\text{m}}{10}$	Ättiksyra. $\frac{\text{m}}{10}$	Koksalt. $\frac{\text{m}}{1}$	Uppmätt vätejonkonc.
1	2	64	13	$10^{-3,24}$
2	40	20	7,2	$10^{-5,05}$
3	64	1	5,3	$10^{-6,24}$ — $10^{-6,5}$
Kolv.	Natriumhydrat. $\frac{\text{m}}{10}$	Klorammonium. $\frac{\text{m}}{10}$	Koksalt. $\frac{\text{m}}{1}$	Uppmätt vätejonkonc.
4	2	66	5,7	$10^{-8,1}$
5	10	50	6	$10^{-8,69}$ — $10^{-8,84}$
6	32	40	9,6	$10^{-9,98}$ — $10^{-10,14}$
7	32	33	8,5	$10^{-11,0}$

Vid beredningen av den sist nämnda gruppen lösningar användes natriumhydrat i stället för ammoniak. I stället ökades mängden ammoniumklorid i mot-

svarande grad. Därvid omsatte sig dessa ämnen enligt reaktionsformeln: $\text{NaOH} + \text{H}_4\text{NCl} = \text{NaCl} + \text{H}_3\text{N} + \text{H}_2\text{O}$. Därigenom erhålles en ökning av koksaltmängden, till vilken hänsyn tagits vid beräkningen av lösningarnas osmotiska tryck.

Av de så beredda vätskorna har till varje försök tagits 5 cm³ till vilka satts 4 dr. mättad lösning av metylenblått i fysiologisk koksaltlösning. Färgningen har pågått under 6 timmar vid 38°. Endast från levande människor tagen hud har använts, och de färgade preparaten hava fixerats i mättad ammoniummolybdatlösning under 8—12 timmar, tvättats i dest. vatten, inbäddats och skurits på vanligt sätt.

Vid den mikroskopiska undersökningen av de så erhållna preparaten erhöles följande resultat. I snitten från de bitar, där vätejonkoncentrationen såväl inom som utom cellerna förändrats erhöles ingen färgning av epidermis eller i bästa fall i de kring neutralpunkten liggande lösningarna (3 och 4) en ytterst svag, knappast iakttagbar blåfärgning. Då vätejonkoncentrationen sjunkit till 10⁻¹⁰ och 10⁻¹¹ (lösningarna 6 och 7) iakttages en stark desquamation av epitelet, som i sistnämnda lösning fullständigt lossnat från corium. Epitelcellerna äro i dessa lösningar violett-färgade (metylenazur?).

I de med fosfatlösningarna behandlade preparaten iakttages en starkare färgning, ju mer alkalisk lösningen blir, så att vid den lägsta vätejonkoncentrationen 10⁻⁸ den bästa färgningen erhålles. I de med de suraste lösningarna ($P_H = 10^{-5.11}$) behandlade preparaten är färgningen svagast och ungefär lika god som i de bäst färgade av de med ättiksyre—acetat- och ammoniak—ammoniumkloridlösningarna behandlade preparaten. I de vid en vätejonkoncentration av 10^{-6.08}—10^{-6.18} färgade preparaten är kärlets innehåll starkt blåfärgat, beroende på, att dels enstaka blodkroppar, dels plasma mellan desamma upptagit färg. Vid färgning med en vätejonkoncentration = 10^{-6.81}—10^{-6.98} visar epitelet en egendomlighet i sin färgning, i det att vissa celler upptagit mer färg än epidermis i övrigt. Därför framstår färgningen såsom tämligen nyckfull, och bilder starkt påminnande om de LANGENHANS'ska cellerna uppkomma.

Sammanfatta vi resultaten av denna undersökning, så visar den, att förändringar av vätejonkoncentrationen utanför cellerna åt det alkaliska hållet ökar upptagningen av metylenblått, förändringar åt det sura hållet åter minska densamma. Detta stämmer väl överens med de av ENDLER (40) samt PELET och ANDERSEN (51) publicerade iakttagelserna. Vid förändringar av vätejonkoncentrationen inom cellen blir färgningen ytterst svag eller uteblir alldeles. Möjligen beror detta på, att cellerna av ättiksyran och ammoniakken hunnit skadas allt för mycket innan acetatet — om en sådan verkan överhuvud kan tillskrivas detta — och ammoniumkloriden hunnit göra sin reglerande inverkan gällande, för att färgupptagningen skulle kunna bli den för resp. vätejonkoncentration normala.

Man kan emellertid teoretiskt beräkna den inverkan förändringar i vätejonkoncentrationen utanför cellerna skola utöva på upptagningen av metylenblått. Vi använda till färgningen metylenblåklorid (MCl). Denna är vid de använda utspädningarna såsom alla neutralsalter dissocierad i metylenblåjoner (M^+) och klorjoner

(Cl⁻). Å andra sidan är vattnet viss utsträckning dissocierat i (OH⁻)- och (H⁺)-joner. Vi kunna då räkna med en viss mängd metylenblåbas (MOH) i lösningen.

Dess mängd bestämmes av ekvationen $\frac{\text{MOH}}{(\text{M}^+) \cdot (\text{OH}^-)} = k$. (k = inverterade värdet av

dissociationskonstanten). Antaga vi tills vidare, att cellmembranen är impermeabel för MCl¹ men permeabel för MOH samt att koncentrationen av metylenblått under försöket är konstant = a , så kunna vi utgå från tvenne ekvationer:

$$1) \quad \frac{(\text{MOH})_{\text{vätska}}}{(\text{M}^+) \cdot (\text{OH}^-)} = k \quad \text{samt}$$

$$2) \quad (\text{M}^+) + (\text{MOH})_{\text{vätska}} = a.$$

Antag vidare, att vätejonkoncentrationen utanför cellen är 10^{-n} . Hydroxyljonkoncentrationen är då 10^{-14+n} .

Insätter man detta värde i ekvationen 1) får man

$$3) \quad (\text{MOH})_{\text{vätska}} = k \cdot (\text{M}^+) \cdot 10^{-14+n} \quad \text{och ur ekvationerna 2) och 3)}$$

$$4) \quad (\text{M}^+) + k \cdot (\text{M}^+) \cdot 10^{-14+n} = a = (\text{M}^+) \cdot (1 + k \cdot 10^{-14+n}) \quad \text{och alltså}$$

$$5) \quad (\text{M}^+) = \frac{a}{1 + k \cdot 10^{-14+n}};$$

genom att införa detta värde i ekvationen 3) erhåller man

$$6) \quad (\text{MOH})_{\text{vätska}} = \frac{a \cdot k \cdot 10^{-14+n}}{1 + k \cdot 10^{-14+n}}.$$

Vi söka den i cellen inträngda mängden färgbas (x). Vätejonkoncentrationen i cellen antages vara 10^{-m} . Hydroxyljonkoncentrationen är då 10^{-14+m} . Dissociationskonstanten för metylenblåbasen antages vara lika stor inom som utom cellen. Vi erhålla då för cellen ekvationerna

$$7) \quad \frac{(\text{MOH})_{\text{cell}}}{(\text{M}^+) \cdot (\text{OH}^-)} = k \quad \text{samt}$$

$$8) \quad (\text{M}^+) + (\text{MOH})_{\text{cell}} = x$$

$$9) \quad (\text{MOH})_{\text{cell}} = k \cdot (\text{M}^+) \cdot (\text{OH}^-) = k \cdot (\text{M}^+) \cdot 10^{-14+m}$$

$$10) \quad (\text{M}^+) = \frac{(\text{MOH})_{\text{cell}}}{k \cdot 10^{-14+m}}; \quad \text{insättes detta värde i 8) blir}$$

$$11) \quad x = \frac{(\text{MOH})_{\text{cell}}}{k \cdot 10^{-14+m}} + (\text{MOH})_{\text{cell}} = (\text{MOH})_{\text{cell}} \cdot \frac{k \cdot 10^{-14+m} + 1}{k \cdot 10^{-14+m}};$$

¹ Se sid. 41 och följande.

Cellmembranen antages tills vidare vara permeabel för MOH men icke för färgsalterna. MOH kommer då att fördelas mellan vätskan och cellprotoplasmat enligt fördelningslagen. Fördelningskonstanten $= c$. Alltså

$$12) \quad \frac{(\text{MOH})_{\text{cell}}}{(\text{MOH})_{\text{vätska}}} = c.$$

$$13) \quad (\text{MOH})_{\text{cell}} = c \cdot (\text{MOH})_{\text{vätska}} = c \cdot \frac{a \cdot k \cdot 10^{-14+n}}{1 + k \cdot 10^{-14+n}}; \text{ (enl. ekv. 6)}$$

enligt ekvation 11 blir då

$$14) \quad x = \frac{k \cdot 10^{-14+m} + 1}{k \cdot 10^{-14+m}} \cdot c \cdot \frac{a \cdot k \cdot 10^{-14+n}}{1 + k \cdot 10^{-14+n}};$$

$$15) \quad x = c \cdot a \cdot \frac{10^n \cdot (1 + k \cdot 10^{-14+m})}{10^m \cdot (1 + k \cdot 10^{-14+n})} = c \cdot a \cdot \frac{10^n + k \cdot 10^{-14+m+n}}{10^m + k \cdot 10^{-14+m+n}};$$

göra vi denna ekvation mer överskådlig genom att multiplicera täljare och nämnare med 10^{14-m-n} erhålla vi

$$16) \quad x = \frac{a \cdot c \cdot (10^{14-m} + k)}{10^{14-n} + k}.$$

Då x var den mängd färg, som upptagits av cellerna finna vi, att denna växer med n . Den blir alltså större, när vätejonkoncentrationen utanför cellen sjunker i full överensstämmelse med de förut anförda försöken.

Det är vidare tydligt, att färgupptagningen står i direkt proportion till koncentrationen av den använda färglösningen samt till fördelningskonstanten. Den uppställda formeln gäller alla cellslag och färgämnen, där man kan antaga, 1) att fördelningen regleras efter lagarna för ämnens löslighet i olika medier samt 2) att färgbasen men icke färgsaltet tränger igenom cellmembranen. Här kunde vara platsen att grafiskt framställa det inflytande variationer av storleken på vätejonexponenten n kunna utöva på storleken av x . Dock torde det vara lämpligt att först sysselsätta sig med frågan om denna ekvation har tillämplighet på metylenblått. Det har redan experimentellt visats, att fördelningen av färg mellan lösningsmedel och cellprotoplasma sker enligt fördelningslagen. Vad som återstår blir då frågan:

Är det färgbasen eller färgsaltet, som intränger i cellerna?

I färglösningen förekommer metylenblått dels i form av metylenblåklorid (MCl), vilken dissocieras i M^+ och Cl^- . Vidare finnas H^+ , OH^- samt fosfat- och metalljoner. M^+ kan då tänkas kombinerad med OH^- eller fosfatjoner. Det kunde nu tänkas, att M^+ genomträngde cellmembranen, men att denna vore ogenomtränglig för övriga i lösningen förefintliga joner och molekyler. Detta måste dock

anses möjligt endast om någon i cellen befintlig jon i stället utträdde och ett utbyte sålunda kunde ske. Färgningen skulle då bli oberoende av vätejonkoncentrationen. För metylenblåfosfatet gäller vad nedan säges om metylenblåkloriden och jag diskuterar därför ej vidare detta. Det återstår då endast de möjligheterna, att metylenblåbasen, -kloriden eller båda skulle kunna intränga i cellen. Antager man att cellmembranen är permeabel för metylenblåkloriden, skulle denna i det givna fallet

fördela sig så att $\frac{(MCl)_{cell}}{(MCl)_{vätska}} = c_1$; c_1 = fördelningskonstanten. Då färgämnets löslig-

het i vätskan knappast — och i varje fall ej märkbart — kan förändras av de små förskjutningarna i mängden primärt och sekundärt fosfat, och då vidare lösligheten föga torde påverkas av de små förskjutningarna i vätejonkoncentrationen, skulle man i detta fall vänta att vid fosfatförsöken få samma färgning av epidermis i alla fall. Så är emellertid icke förhållandet, och vi måste då antaga, att metylenblåbasen intränger och är anledningen till dessa förändringar. Skulle MCl intränga tillsammans med MOH bleve förhållandet likartat, då mängden MOH i förhållande till mängden MCl är alltför obetydlig för att den skulle kunna komma till synes. Det återstår sålunda endast den möjligheten, att det är metylenblåbasen, som intränger i cellerna och är orsaken till dessas färgning. Detta stämmer väl överens med OVERTONS tidigare uppfattning. Denne forskare ansåg nämligen förr att salterna av de basiska anilinfärgerna äro starkt hydrolytiskt spaltade samt att de fria färgbaserna äro lösliga i eter, oljor etc. Det stämmer vidare överens med växtcellernas och groddlarvernas förhållande till alkaloider: OVERTON (46) har nämligen funnit, att de starka syrornas alkaloidsalter knappast och vid ökning av vätejonkoncentrationen icke alls intränga. Den fria alkaloidbasen intränger däremot lätt.

I ett senare arbete (45)¹ frångår emellertid OVERTON sin tidigare uppfattning, att det skulle vara färgbaserna, som intränga i cellerna och uttalar istället såsom sin åsikt att det skulle vara färgsaltet. Såsom skäl härför anger han, att man enligt de modärnare åsikterna om anilinfärgernas konstitution knappast kan tänka sig att deras ensyriga salter i vattenlösning äro i nämnvärd grad hydrolytiskt dissocierade. Detta emedan färgbasen skulle vara en betydligt starkare bas än han förut antagit. För att förstå den snabbhet varmed cellfärgningen inträder måste man emellertid antaga att minst 5 % av det i lösningen befintliga färgämnet befunne sig i form av färgbas, vilket, om ovannämnda åsikter om färgämnenas konstitution vore riktig, ej skulle vara möjligt, åtminstone beträffande trifenylmetan- och chinonimidfärgämnena.

Redan beträffande utgångspunkten, att anilinfärgernas baser skulle vara starka baser, torde, med den allmänna fattning OVERTON givit sitt uttalande, meningarna vara delade. I ett 1914 utkommet arbete (36) säger BJERRUM: (sid. 63) Hiermit würde es stimmen, dass die Indikatoren gewöhnlich *sehr schwache* Säuren und Basen zu sein scheinen». Bland de av OVERTON undersökta färgämnena finnes emellertid ett fler-

¹ Detta arbete har tyvärr först under tryckningen av föreliggande avhandling blivit mig tillgängligt.

tal som fått användning såsom indikatorer, t. ex. gentianaviolett och metylviolett i trifenylnmetangruppen och neutralrött i chinonimidgruppen för att uppräknat några.

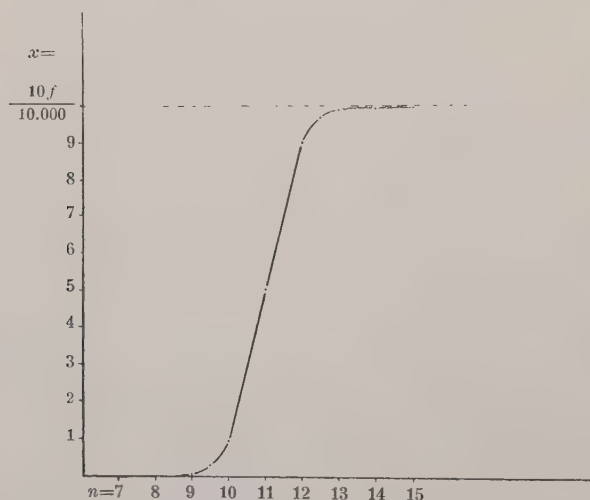
Beträffande andra torde däremot OVERTONS uttalande vara berättigat i så måtto, att deras färgbaser äro starka baser och till dessa hör just metylenblått, vars dissociationskonstant, såsom å sid. 44 säges, beräknats till ungefär 10^{-3} . Jag måste därför närmare uppehålla mig vid detta fall. Man måste då först fråga, huru OVERTON beräknat, att minst 5 % av färgämnet skulle vara hydrolyserat för att färgningens snabbhet skulle kunna förklaras. Härom lämnas ingen som helst upplysning. Om denna siffra gäller färgbasen bör den med samma rätt kunna tänkas gälla färgsaltet. Redan i en 0,1-molar lösning är emellertid detta till 90 % elektrolytiskt dissocierat i sina båda joner och i en lösning, som, i likhet med den som användes till färgning, är 0,0001-molar torde endast bråkdelar av 1 % vara kvar i odissocierat salt. Vi finna i stället i detta fall koncentrationen av odissocierat färgsalt och genom hydrolys uppkommen färgbas vara av samma storleksordning i den använda lösningen. Emellertid, allt eftersom färgsaltet intränger i cellen, återbildas nytt salt genom jonernas förening utanför cellen. Men detsamma gäller även färgbasen och utgör således intet särskilt stöd för någondera uppfattningen. Det finnes emellertid fakta, som bestämt tala emot den av OVERTON sist företrädde uppfattningen. Hit hör det faktum, att minskning av hydroxyljonkoncentrationen utanför cellen minskar färgupptagningen. Detta torde knappast kunna förklaras, om det är färgsaltet, som intränger, och det är ett lika gott stöd för färgbasens inträngande som för alkaloidbasernas, i fråga om vilka OVERTON själv använder samma tankegång. Ännu ett skäl må anföras: Närvaro av koksalt i en lösning minskar dess lösningsförmåga av metylenblåklorid. I en 0,9 % klornatriumlösning löses mindre än $\frac{1}{10}$ så mycket färg som i destillerat vatten. Rörsocker påverkar däremot ej märkbart lösligheten. Fördelningskoefficienten för färgen mellan cellprotoplasmat och koksaltlösningen måste alltså vara mer än 50 gånger så stor som mellan cellprotoplasmat och rörsockerlösningen. Skulle nu OVERTONS nyare åsikt vara riktig, skulle ur en fysiologisk koksaltlösning ungefär femtio gånger mer färg upptagas av cellerna än ur en isotonisk rörsockerlösning. Försök över denna fråga, dels anordnade såsom vid försöken angående färgupptagningen av marsvinshud vid olika färgkoncentration och dels med mindre människohudbitar, som sedermera inbäddats och skurits på vanligt sätt, visa emellertid, att ur en sockerlösning snarare mera färg upptages än ur en isotonisk koksaltlösning, naturligtvis vid samma färgkoncentration i båda lösningarna. Detta synes mig avgjort tala för den av mig företrädde uppfattningen, att *det är färgbasen som intränger i cellerna*. Försök med den av OVERTON (45) angivna benzol-lecitinblandningen tala med bestämdhet för att färgsaltet icke i iakttagbar mängd är lösligt i lecitin, vilket däremot färgbasen är i dess högre grad. Det är nämligen färgbasen som vid dessa försök övergår i den ovan nämnda blandningen. *Den av mig här försvarade uppfattningen står därför bättre än Overtons nyare i överensstämmelse med hans lipidteori.*

Sammanfattning av Kap. II.

Det har genom de ovan omtalade försöken gjorts sannolikt, att färgningen av epidermis följde lagarna för ämnens löslighet i olika medier. Detta bestyrkes genom den fullständiga överensstämmelsen mellan det teoretiskt beräknade och det experimentellt funna inflytandet förändringar av vätejonkoncentrationen utanför cellen hava på färgupptagningen. Vid den teoretiska beräkningen utgicks nämligen från antagandet, att färgen var löst i cellprotoplesmat. Det skulle f. ö. vara svårt att förstå, huru förändringar i vätejonkoncentrationen utanför cellen skulle kunna påverka adsorptions- eller kemiska processer inuti cellen. Det har vidare visat sig berättigat att för den vitala metylenblåfärgningen av epidermis uppställa ekvationen:

$$x = \frac{a \cdot c (k + 10^{14-m})}{k + 10^{14-n}},$$

där x betecknar den upptagna färgmängden; a totalkoncentrationen av färg i den använda lösningen; c fördelningskonstanten mellan färgvätska och cellprotoplasma; n vätejonexponenten utanför och m vätejonexponenten inuti cellen samt k inverterde värdet av färgbasens dissociationskonstant.



Textfigur 1.

Sambandet mellan färglösningens vätejonkoncentration och cellens absoluta färgupptagande.

Det kan vara av intresse att undersöka, vilken inverkan de olika konstanternas variationer kunna hava på storleken av den upptagna färgmängden. Börja vi då med att låta vätejonkoncentrationen bli densamma inom och utom cellerna, alltså $m = n$ så blir

$$x = a \cdot c;$$

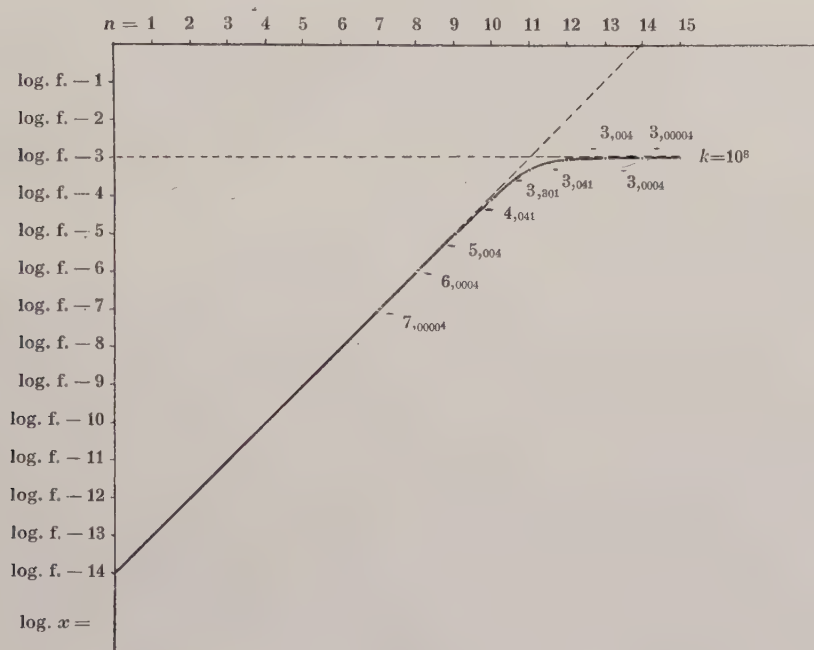
Färgupptagningen bestäms då endast av totalkoncentrationen och fördelningskonstanten.

Vätejonexponentens inverkan på färgupptagningen framgår av bifogade kurvor (textfigg. 1 och 2). Dissociationskonstanten har i dessa för metylenblått med

¹ Då diffusionen är proportionel mot skillnaden i ämnets koncentration i de båda medierna skulle x teoretiskt taget först efter oändligt lång tid nå det av ekvationen angivna värdet. Då å andra sidan de mycket små tillskott av färg, varom det efter ett eller annat dygn skulle bli fråga, icke av oss kunna iakttagas och då vidare avstånden inom huden äro så små torde tiden praktiskt kunna begränsas till en eller annan dag. Nu avbryta vi emellertid färgningen redan efter 4–6 timmar och vi få därför icke vänta oss, att preparatens färgstyrka exakt skall förhålla sig såsom ekvationen anger. Därtill kommer den enzymatiska avfärgningen, som gör, att vi endast vid obehindrat lufttilltåde till alla celler kunna räkna med full färgstyrka i preparatet.

ledning av de av HANTZSCH och OSSWALD (41) angivna siffrorna beräknats till ung. 10^{-3} .

Värdet på x kommer då vid stigande n -värde att asymptotiskt närma sig $\frac{f}{10^3}$ om $f = a \cdot c (k + 10^{14-m})$. Vid sjunkande n -värden åter kommer x -värdet att asymptotiskt närma sig 0. Då cellerna knappast kunna förbliva vid liv, om vätejonkoncentrationen blir större än 10^{-3} eller mindre än 10^{-9} är den på textfig. 1 tydligt iakttagbara delen av kurvan av ringa intresse. Absolut taget äro ju förändringarna i den upptagna färgmängden här störst. Relativt taget sjunker den upptagna färgmängden oavbrutet. Detta framgår lätt vid en jämförelse av de för x beräknade värdena om $n=9$ och $n=10$. I senare fallet upptages 9 gånger mer färg än i det förra.



Textfigur 2.

Sambandet mellan färglösningens vätejonkoncentration och cellens relativa färgupptagande.

Blir $n=11$ upptages endast ung. 5 gånger så mycket färg som när $n=10$ o. s. v. Gå vi till lägre värden på n komma vi till områden, där den upptagna mängden relativt förändras ännu mer, men de absoluta mängderna äro för små för att kunna iakttagas vid detta format på kurvan. Då å andra sidan det just är inom dessa områden för n -värdet vitalfärgningar verkligen kunna företagas, och då det vidare är den relativt upptagna mängden, som bestämmes å mina preparat, har jag ansett det lämpligt att genom textfig. 2 demonstrera den relativt upptagna färgmängdens beroende av vätejonexponentens storlek. Denna kurva visar, att så länge värdet på n är litet d. v. s. variationerna i vätejonkoncentrationen ligga inom de gränser, inom

vilka cellerna förbliva vid liv, eller på den sura sidan därom, stiger den upptagna färgmängden nästan proportionellt med värdet på n . Kurvan närmar sig åt det sura hållet asymptotiskt till linjen 14—14. Då n kommer upp till värden på 10 och däröver, kommer värdet på k i ekvationen att allt mer göra sig gällande, så att kurvan i fortsättningen närmar sig linjen $\log x = \log f - 3$ asymptotiskt d. v. s. ökningarna i färgupptagningen äro här minimala vid stigande n -värden. Läget av kurvans krökning kommer att bli beroende av storleken på dissociationskonstanten och förskjutes vid ökning resp. minskning av dess exponent (e) uppåt resp. nedåt utefter linjen 1—1. Kurvans högra skänkel närmar sig därvid alltid asymptotiskt till linjen $\log x = \log f - e$.

Man kan således med kännedom om vissa ovan angivna konstanter beräkna adels mänvden i det givna fallet upptagen färg, dels också vilka förändringar denn mängd undergår vid ändringar av betingelserna. Den i cellen inträngda färgen reduceras sedan till leucometylenblått genom det i cellen förekommande enzymet succinodehydrogenas och möjligen andra detta närstående enzym.

Översikt.

Jag har i det föregående sökt visa vilka processer, som avspela sig vid vitalfärgning av epidermis. Det är av det sagda tydligt, att diffusionen av färgämnet (färgbasen) spelar en stor roll vid dess inträngande i denna vävnad. Diffusionen är, som bekant, en långsamt försiggående process, och tiden ökas med färgens utspädning. Det är därför vid de utspädda färger, som användas till vital metylenblåfärgning icke underligt, om färgen icke alltid hunnit utbreda sig jämnt över hela vävnaden och därför icke heller underligt, om vi efter fixering av färgen och vävnaden, finna den förra anhopad på vissa begränsade områden. Dessa områden, i vissa fall kallade LANGERHANS'ska celler, behöva icke vara begränsade till vissa epitelceller utan kunna gripa över på närgränsande och på detta sätt kunna de egendomliga konstprodukter, som skildrats i kap. I och som väckt så många forskares intresse, uppkomma.

Zusammenfassung.

Im 1. Kapitel gibt der Verf. zuerst eine geschichtliche Übersicht über der Literatur der Langerhans'schen Zellen. Aus dieser Übersicht geht hervor, wie weit die Beschreibungen und Auffassungen betreffs dieser Zellen von einander abweichen. Im Folgenden untersucht der Verf., wie weit dieser Unterschied durch die Verschiedenheit der gebrauchten Färbemethoden erklärt werden kann, und welche dieser Methoden als unzulänglich betrachtet werden muss. Als brauchbar erweisen sich dann von den hierzu angewandten Vorfahren nur die Goldimprägnationsmethode in ihren verschiedenen Modifikationen und die vitale Methylenblaufärbung, die übereinstimmende, obgleich in mancher Hinsicht variierende Gebilde liefern. Betreffs dieser Arbeitsmethoden weist der Verf. nach, dass sie die notorischen Epidermiszellen färben, sowie auch die Zellgrenzen und den Interzellularsubstans. Diese Färbungen müssen jedoch als sehr unzuverlässig betrachtet werden. Man bekommt dadurch alle Übergänge zwischen Färbungen der ganzen Epidermis und Zellen, die vereinzelt oder im Zusammenhang mit Interzellularsubstans gefärbt sind. Zu letztgenannten Färbungen müssen die Langerhans'schen Zellen gerechnet werden und dieselben können nur ganz willkürlich, als von den übrigen Epidermiszellen verschieden, abge sondert werden.

Die Unzuverlässigkeit der Goldimprägnation wird hinreichend erklärt durch die Schwierigkeit, welche dem Eindringen des Metallsalzes entgegen steht, und durch die daraus folgende Verschiedenheit der Verteilung desselben im Gewebe.

Über die vitale Methylenblaumethode werden im Kapitel II weitere Untersuchungen angestellt. Der Verfasser untersucht zuerst die Abfärbung des Methylenblaus durch die Epidermis und findet es sehr wahrscheinlich, dass dieselbe ein enzymatischer Process ist. Die wirksamen Enzymen sind die von Thunberg entdeckte »Succinodehydrogenas« und wahrscheinlich ausserdem einige andere. Leucomethylenblau scheint nicht in die Epidermiszellen einzudringen. Die Verteilung der Farbe zwischen Gewebe und Farblösung geschieht, wie man nach den beschriebenen Versuchserien annehmen kann, nach dem Verteilungsgesetz. Der Verf. untersucht nunmehr den Einfluss der Veränderungen in der Wasserstoffionenkonzentration ausserhalb der Zelle auf die Farbeaufnahme und zeigt wie eine Verminderung dieser Konzentration die Farbeaufnahme begünstigt, während auf die Veränderung der Reaction im Säuren eine verminderte Aufnahme folgt. Aus diesen Befunde lässt

sich die Schlussfolgerung ziehen, dass es die Farbbase ist, die in die Zellen eindringt, und nicht das Farbsalz. Es wird dann möglich die Ekvation der Farbeaufnahme abzuleiten. Wenn x die in die Zelle eingedrungene Menge Farbbase, a der Totalkonzentration der Farbe in der gebrauchten Farblösung, c die Verteilungskonstante zwischen Farblösung und Zellprotoplasma, n die Wasserstoffionenkonzentration ausserhalb und m innerhalb der Zellen und k der umgekehrte Wert der Dissociationskonstanten der Farbbase darstellt, so wird

$$x = \frac{a \cdot c \cdot (k + 10^{14-m})}{k + 10^{14-n}};$$

nach dem Gesetz der Diffusion wird dieses Gleichgewicht doch erst nach unendlicher Zeit erreicht. Die Langsamkeit der Diffusion erklärt auch die ungleiche Verteilung der Farbe und damit auch das Entstehen der LANGERHANS'schen Zellen.

Litteraturförteckning.

Kap. I.

1. AGDUHR, E.: »Über Stücfärbung mit BIELCHOWSKYS Silberimprägnationsmethode. — Einige Modifikationen.« Zeitschr. f. wiss. Mikr. u. f. mikr. Techn. Bd 34, 1917. S. 1.
2. ARNSTEIN: »Die Nerven der behaarten Haut.« Sitzungsber. d. Wiener Akad. d. Wissensch. Bd 74, 1876.
3. BIESIADECKI: »Beiträge zur physiologischen u. pathologischen Anatomie der Haut.« Sitzungsber. d. Wiener Akad. d. Wiss. Math.-naturw. Kl. Bd. 56, 1867. S. 225.
4. BREUL, L.: »Über die Verteilung des Hautpigmentes bei verschiedenen Menschenrassen.« Morphol. Arb. Bd 6; 1896.
5. CHRSCHTSCHONOWITSCH: »Beiträge zur Kenntniss der feineren Nerven der Vaginalschleimhaut.« Sitzungsber. d. Wiener Akad. d. Wissensch. Math. Naturw. Kl. Bd 63, 1871; Abt. II; S. 301.
6. CYBULSKY, J. B.: »Das Nervensystem der Schnautze und Oberlippe von Ochsen.« Zeitschr. f. wissensch. Zool. Bd 39, 1883. S. 653.
7. EBERTH: »Die Endigung der Hautnerven.« Arch. f. mikr. Anat. Bd 6, 1870. S. 225.
8. EIMER, T.: »Die Schnautze der Maulwurfs als Tastwerkzeug.« Arch. f. mikr. Anat. Bd 7, 1871. S. 181.
9. — —: »Über den Nervenendigung in der Haut der Kuhsitze.« Arch. f. mikr. Anat. Bd 8, 1872. S. 643.
10. ELIN, E.: »Zur Kenntnis der feineren Nerven der Mundhöhlenschleimhaut.« Centralblatt f. d. Med. Wissensch. Jahrg. 9, 1871. S. 225.
11. — —: »Zur Kenntnis der feineren Nerven der Mundhöhlenschleimhaut.« Arch. f. mikr. Anat. Bd 7. 1871. S. 382.
12. HERXHEIMER, K.: »Über Pemphigus vegetans nebst Bemerkungen über die Natur der LANGERHANS'schen Zellen.« Arch. f. Dermat. u. Syphil. Bd 36, 1896. S. 141.
13. HÄGGQVIST, G.: »Studien über die Temperatursinne der Haut des Menschen.« Kungl. Svenska Vetenskapsakad. Handl. Bd 53, N:o 2. 1915.
14. — —: »Rongalitvitt som nervfärgningsmedel.« Svenska Läkaresällskapets Handlingar. 1916.
15. KALLIUS: »GOLGI'sche Methode.« Encyklopädie d. mikr. Technik. Berlin-Wien 1903.
16. KREIBISCH: »Nervzellen der Haut.« Arch. f. Dermatologie u. Syphilis. 1917. Bd 124, S. 487.
17. KROMAYER: »Einige epitheliale Gebilde in neuer Auffassung.« Dermat. Zeitschr. Bd 4, 1897. S. 335.
18. KÖLLIKER, A.: »Handb. d. Gewebelehre.« Aufl. 5. 1867.
19. — —: »Handb. d. Gewebelehre.« Aufl. 6, 1889. Bd I. S. 171.
20. LANGERHANS: »Ueber die Nerven der menschlichen Haut.« Arch. f. pathol. Anat. u. Physiologie u. f. klin. Med. Bd 44, 1868. S. 325.
21. LEYDIG, F.: »Die Hautdecke und Schale der Gastropoden, nebst einer Uebersicht einheimischen Limocinen.« Arch. f. Naturgeschichte. Bd 1, 1876. S. 209.
22. MAYER, S.: »Beiträge zur Histologie und Physiologie des Epithels.« Lotos. Bd 12. Prag. 1892. S. 24.

23. MERKEL, FR.: »Tastzellen und Tastkörperchen bei den Hausthieren und beim Menschen.« Arch. f. mikr. Anat. Bd 11, 1875. S. 636.
24. V. MOJSISOVICS: »Über die Nervenendigung in der Epidermis der Säuger.« Sitzungsber. d. Wiener Akad. d. Wissensch. Math.-nat. Kl. Bd 71, Abt. III; 1875. S. 242.
25. PALADINO: »Sulla terminazione dei nervi cutanei delle laltre.« Bulletino dell' Associazione dei Naturalisti Medici par la mutua istruzione. No. 10. 1871. Citerat enl. MERKEL.
26. PODCOPAËW: »Ueber die Endigung der Nerven in der epithelialen Schicht der Haut.« Arch. f. mikr. Anat. Bd 5, 1869. S. 506.
27. RANVIER, L.: »Technisches Lehrbuch d. Histologie.« Uebersetzt von NICATI und WYSS, Leipzig. 1888.
28. REISSNER, A.: »Ueber das Vorkommen von Nerven in spitzen Condylomen.« Arch. f. Dermatologie. Bd 2, 1894. Anf. enl. VOLLMER.
29. RIBBERT, H.: »Beiträge zur Anatomie der Hautdecke bei Säugern.« Inaug. Diss. Bonn. 1878.
30. STÖHR, PH.: »Lehrbuch d. Histologie«. 13. Aufl. Jena 1909.
31. SZYMONOWICZ: »Goldmetoden.« Enzyklopädie d. mikr. Technik. Berlin-Wien 1903.
32. UNNA, P. G.: »Die Sauerstofforte und Reduktionsorte.« Arch. f. mikr. Anat. Bd 87, 1915. S. 96.
33. VOLLMER: »Nerven und Nervenendigungen in spitzen Condylomen.« Arch. f. Dermat. u. Syphil. Bd 30, 1895. S. 363.

Kap. II.

34. BATELLI, F. UND STERN, L.: »Die Oxydation der Bernsteinsäure durch Tiergewebe.« Biochem. Zeitschr. Bd 30, 1910. S. 172.
35. BAYLISS, W. M.: »Principles of general physiology.« Sec. Edition. London 1918.
36. BJERRUM, N.: »Die Theorie der alkalimetrischen und azidimetrischen Titrierungen.« Samml. chem. u. chem.-techn. Vorträge. Bd 21, 1914.
37. DOGIEL: »Methylenblau zur Nervenfärbung.« Enzyklopädie d. mikr. Technik. 2 Aufl. Berlin-Wien 1910. Bd 2. S. 88.
38. EHRLICH, P.: »Ueber die Methylenblaureaktion der lebenden Nervensubstanz.« Deutsch. med. Wochenschr. Jahrg. XII, 1886.
39. ENDLER, J.: »Über den Durchtritt von Salzen durch das Protoplasma. I.« Biochem. Zeitschr. Bd 42, 1912. S. 440.
40. — —: »Über den Durchtritt von Salzen durch das Protoplasma. II.« Biochem. Zeitschr. Bd 44, 1912. S. 359.
41. HANTZSCH, A., UND OSSWALD, G.: »Ueber die Umwandlung von Farbbasen in Pseudo-ammonium-Hydrate- Cyanide und Sulfonsäuren.« Berichte d. deutsch. chem. Gesellschaft. Jahrg. 33, 1900. S. 278.
42. HÖBER, R.: »Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe.« 4. Aufl. Leipzig u. Berlin 1914.
43. LANDAUER, P. UND WEIL, H.: »Studien über das Methylenblau.« Berichte d. deutsch. chem. Gesellschaft. Bd 43, 1910. S. 198.
44. MICHAËLIS, L.: »Die vitale Färbung, eine Darstellungsmethode d. Zellgranuala.« Arch. f. mikr. Anat. Bd 54, 1900.
45. OVERTON, E.: »Studien über die Aufnahme der Anilinfarben durch die lebende Zelle.« Jahrb. wiss. Botanik. Bd 34, 1900. S. 669.
46. — —: »Ueber die osmotischen Eigenschaften der Zelle in ihrer Bedeutung für die Toxikologie und Pharmakologie.« Zeitschr. & physik. Chemie. Bd 22, 1897. S. 189.
47. — —: »Über die osmotischen Eigenschaften der lebenden Pflanzen- und Tierzelle.« Vierteljahrsschr. d. Naturf. Gesellschaft in Zürich. Jahrg. 40, 1895. S. 159.
48. — —: »Ueber die allgemeinen osmotischen Eigenschaften der Zelle, ihre vermutlichen Ursachen und ihre Bedeutung für die Physiologie.« Vierteljahrsschr. der naturf. Gesellschaft in Zürich Jahrg. 44, 1899. S. 88.
49. — —: »Studien über die Narkose.« Jena 1901.

50. OVERTON, E.: »Beiträge zur allgemeinen Muskel- und Nervenphysiologie. III. Mitteilung. Studien über die Wirkung der Alkali- und Erdalkalisalze auf Skelettmuskeln und Nerven.« Arch. f. d. gesamte Physiologie. Bd 105, 1904. S. 176.
 51. PELET, L. UND ANDERSEN, N.: »Über den Einfluss von Säuren und Basen auf den Färbungsvorgang.« Zeitschr. f. Chemie u. Industrie d. Kolloide. Bd II, 1907—1908. S. 225.
 52. RODHE, K.: »Untersuchungen über den Einfluss der freien H-ionen im Innern lebender Zellen auf den Vorgang der vitalen Färbung.« Pfügers Arch. Bd 168, 1917. S. 411.
 53. RUHLAND, W.: »Die Bedeutung der Kolloidnatur wässriger Farbstofflösungen für ihr Eindringen in lebende Zellen.« Berichten d. Deutsch. Bot. Ges., Bd 26a, 1908. S. 772.
 54. — —: »Die Plasmahaut als Ultrafilter bei der Kolloidaufnahme.« Ber. d. deutsch. Bot. Ges. Bd 30, 1912. S. 139.
 55. SÖRENSEN, S. P. L.: »Enzymstudier II. Om Maalningen og Betydningen av Brintionkoncentrationen ved enzymatiske Processer.« Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet. Bd 8, 1909. S. 1.
 56. — —: »Ueber die Messung und Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration bei biologischen Prozessen.« Ergebnisse d. Physiologie, Jahrg. 12, 1912. S. 393.
 57. THUNBERG, T.: »En biologisk färgreaktion å bernstensyra«. Sv. Läkaresällskapets Handl. Bd 43, 1917. S. 996.
 58. — —: »Zur Kenntnis der Einwirkung tierischer Gewebe auf Methylenblau.« Skand. Arch. f. Physiologie. Bd 35, 1917. S. 163.
-

Tavelförklaring.

Fig. 1 visar ett snitt genom epidermis med ett antal LANGERHANS'ska celler. I en del av cellerna framträder kärnan som ett ljusare parti. Att fullt troget återgiva detta preparat har dock icke varit möjligt, då utlöparna anastomosera till ett tätt, i olika plan liggande nätverk. Epitelcellerna framträda svagt konturerade och giva redan de en föreställning om guldets ojämna reduktion. Tecknat efter preparatet med ok. n:o 4 och immersionsobj. $\frac{1}{12}$. Preparatet behandlat enligt Löwits metod, skuret i 30 μ -snitt och monterat i kanadabalsam.

Fig. 2. Visar ett antal medelst rongalitvitt (R. V.) färgade LANGERHANS'ska celler. De ofärgade epidermiscellernas konturer äro antydde. Färgens koncentration 2 dr. R. V.: 100 cm³ 0,7 % NaCl-lösning. Snittjocklek 30 μ . Tecknat efter preparatet med ok. n:o 4 och immersionsobj. $\frac{1}{12}$.

Fig. 3 visar några svagt blåfärgade celler i det f. ö. här ofärgade epidermis. En av dessa celler karaktäriserar sig genom sina utlöpare som en LANGERHANS' cell. Färgkonc. 2 dr.: 100 cm³ 0,7 % NaCl. Tecknat med ok. n:o 4 och immersionsobj. $\frac{1}{12}$. Snittjocklek 30 μ .

Fig. 4 visar tre st. LANGERHANS'ska celler med utlöpare, som anastomosera till ett nät. Epidermiscellerna pigmenterade. Snittjocklek 10 μ . Färgkonc. R. V. 4 dr: 25 cm³ 0,7 % NaCl. Tecknat medelst ok. n:o 4 och immersionsobj. $\frac{1}{12}$.

Fig. 5. I en epidermispapill synes ett antal blåfärgade celler, vars utlöpare anastomosera till ett nätverk. Andra celler mindre skarpt färgade. Bindväven metachromatiskt rödfärgad. Färgkonc. R. V. 4 dr: 25 cm³ 0,7 % NaCl. Snittjocklek 30 μ . Tecknat med ok. n:o 4 samt immersionsobj. $\frac{1}{12}$.

Fig. 6 avbildar ett medelst R. V. färgat parti av ett snitt. Bilden hämtad från snittets kant. Bindväven violett färgad. Färgkonc. R. V. 4 dr: 25 cm³ 0,7 % NaCl. Snittjocklek 30 μ . Tecknat med ok. n:o 4 och immersionsobj. $\frac{1}{12}$.

Fig. 7 avbildar ett tangentialsnitt av epidermis. Bindväven metachromatiskt rödfärgad. Bilden hämtad från de centrala delarna av preparatet. Epidermiscellerna »nyckfullt» och oregelbundet färgade liksom intercellularsubstansen. Färgkonc. R. V. 4 dr: 25 cm³ 0,7 % NaCl. Tecknat med ok. n:o 4 och immersionsobj. $\frac{1}{12}$.

Fig. 8 avbildar ett tangentialsnitt genom epidermis i de centrala delarna av snittet. Bindväven metachromatiskt rödfärgad. Epidermiscellerna »nyckfullt» och oregelbundet färgade. Några det subepidermala nätverket tillhöriga nervtrådar falla inom snittet och synas genom superposition inom området för epidermis. Färgkonc. R. V. 4 dr: 25 cm³ 0,7 % NaCl. Tecknat med ok. n:o 4 och immersionsobj. $\frac{1}{12}$. Snittjocklek 30 μ .

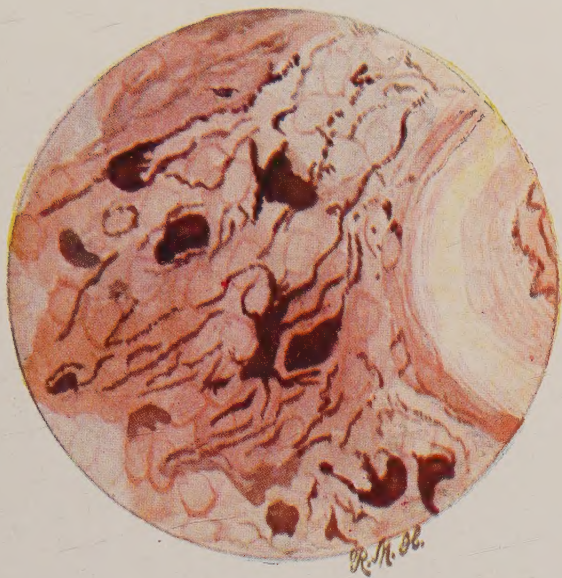


Fig. 1.



Fig. 2.

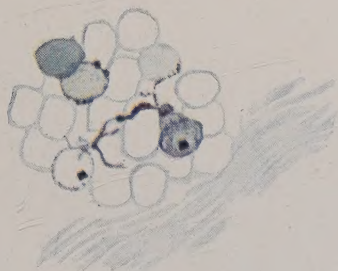


Fig. 3.

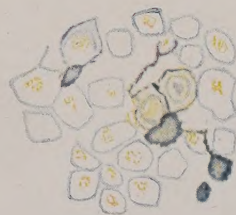


Fig. 4.

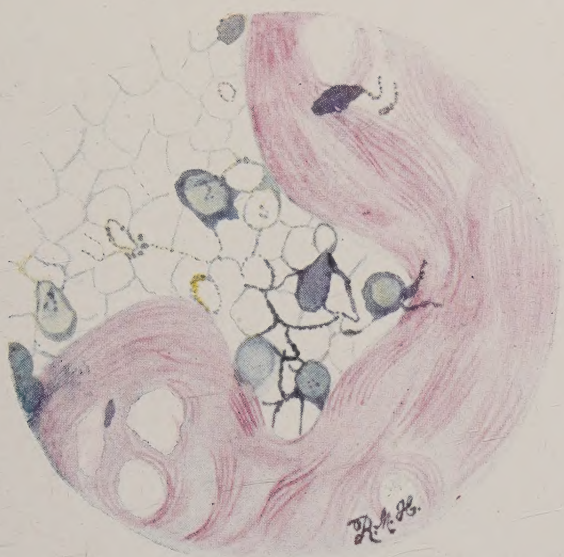


Fig. 5.

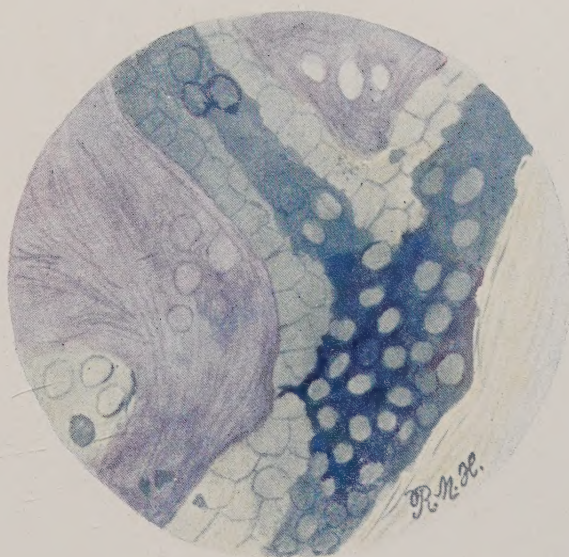


Fig. 6.

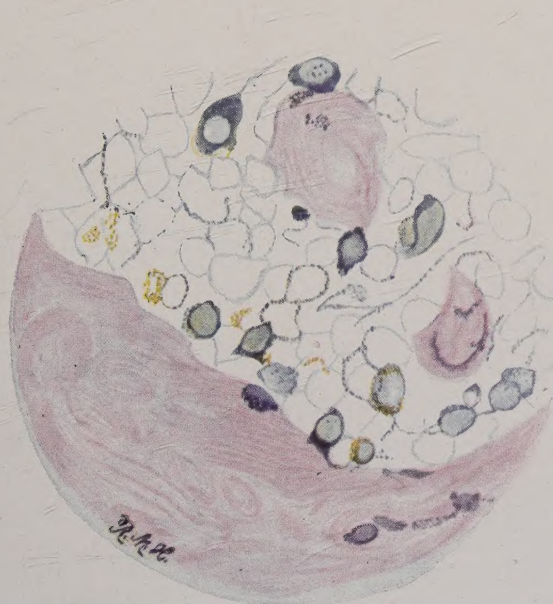


Fig. 7.

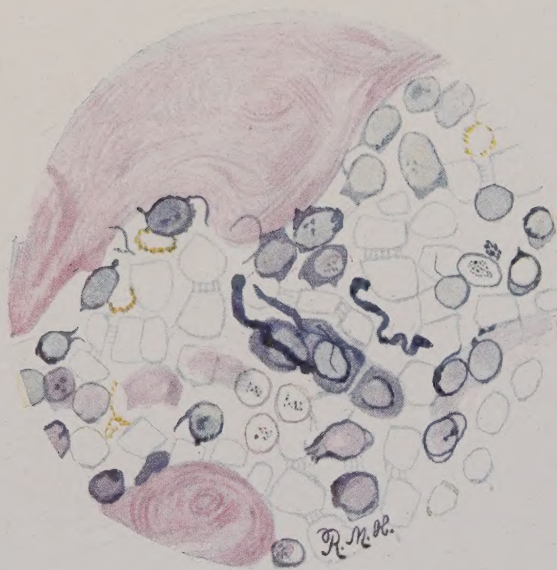


Fig. 8.

